

**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR
SERUMOPSONIN- UND GRANULOZYTENFUNKTION
BEI PATIENTEN MIT ERHÖHTER
INFEKTIONSANFÄLLIGKEIT.**

— Therapeutische und experimentelle Beurteilung einer
opsoninhaltigen Serumfraktion. —

Josef Mayr

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0077

Aus der Kinderklinik der Universität München
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Direktor: Prof. Dr. K. Betke

Experimentelle Untersuchungen zur Serumopsonin- und Granulozytenfunktion bei Patienten mit erhöhter Infektionsanfälligkeit. Therapeutische und experimentelle Beurteilung einer opsoninhaltigen Serumfraktion.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Josef Mayr
aus
Augsburg
1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Marget

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Betke

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9.4.1981



gewidmet

meiner Frau Rita und

meiner Tochter Nicola

Inhaltsverzeichnis

A. Einführung

1. Reaktionsformen des Abwehrapparates auf bakterielle Infektionen	1
2. Reaktionsfolge bei akuten lokalen Infektionen	2
2.1 Gefäßreaktion	2
2.2 Chemotaxis	2
2.3 B- und T-Lymphozyten	3
2.4 Opsonisierung	3
2.5 Phagozytose	4
2.6 Granulozytäre Stoffwechselveränderungen	6
2.7 Ingestion	6
2.8 Bakterizide Mechanismen im neutrophilen Granulozyten	6
2.9 Weiteres Schicksal der neutrophilen Granulozyten	8
3. Störungen des Abwehrprozesses	10
3.1 Mobilisierungsstörungen von Phagozyten	10
3.1.1 Erste Linie der zellulären Abwehr (neutrophile Granulozyten) betroffen	10
3.1.2 Zellen der ersten (neutrophile Granulozyten) und der zweiten Verteidigungslinie (Monozyten) betroffen	10
3.1.3 Störung der nicht gerichteten Migration	10
3.1.4 Störung der gerichteten Migration	11
3.1.5 Störung chemotaktischer Faktoren	11
3.2 Störung der Opsonisierung	11
3.3 Störungen im intrazellulären Bakterizidie-System	11
4. Fragestellung unserer Untersuchungen	12

B. Material und Methoden

1. Patientengruppen	13
2. Material und dessen Herstellung	13
2.1 Testbakterien	13
2.2 Poolserum	15
2.3 Patientenserum	15
2.4 Leukozytensuspension	15
2.5 HBSS und PBS	16

3. Methoden	16
3.1 Phagozytose-Bakterizidie-Test	16
3.1.1 Im Testverfahren verwendete Lösungen und Suspensionen	16
3.1.2 Versuchsablauf	17
3.2 Auswertung der Testergebnisse	21
3.3 Antibiotika in den Patientenserum	22
3.3.1 Auswaschung der Antibiotika	22
3.3.2 Rechnerische Möglichkeit, den Grad des Antibiotika- einflusses auf die Bakterizidierate zu beurteilen	22
4. Physikalisch-chemisches Profil von Proopsonin und Poolserum	24
C. Ergebnisse	27
1. Granulozyten- und Serumopsoninfunktion der untersuchten Patienten	27
1.1 Patienten mit primärer Immundefizienz	27
1.1.1 Wiskott-Aldrich-Syndrom, 4 Fälle	27
1.1.2 Patient mit septischer Granulomatose und drei Fami- lienmitglieder	30
1.1.3 Sechs Patienten mit bekannten Immundefekten	33
1.1.4 Patient mit Morbus Down	37
1.1.5 Drei Frühgeborene	37
1.2 Patienten mit sekundärer Immundefizienz	40
1.2.1 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie	40
1.2.2 Ein Patient mit akuter myeloischer Leukämie und Mye- loperoxidasemangel sowie dessen Familienangehörige	45
1.2.3 Patienten mit thermischen Verletzungen	52
1.2.4 Zwei splenektomierte Patienten	55
1.2.5 Patient mit Urämie und Nephrektomie	56
1.2.6 Patient mit Diabetes mellitus	56
1.3 Patienten ohne diagnostizierte Immundefizienz	59
1.3.1 Patienten mit rezidivierenden Staphylokokken-Hautabs- zessen	59
1.3.2 Neun Patienten mit bakterieller Sepsis	62
1.3.3 Neun Patienten mit verschiedenen Infektionen	66
2. Testgenauigkeit bei der Bakterizidieraten-Bestimmung	74

3. Untersuchungen mit Proopsonin	76
3.1 In vitro Untersuchungen	76
3.1.1 Einfluß der Proopsoninkonzentration auf die Ergebnisse des Phagozytose-Bakterizidie-Tests	76
3.1.2 Phagozytose-Bakterizidie-Versuche mit dekomplementiertem, absorbiertem und filtriertem Serum	79
3.1.3 Wachstumsverhalten der Teststaphylokokken in Serum, Serum + Proopsonin und in Proopsonin allein	83
3.1.3.1 Bakterien in Poolserum	83
3.1.3.2 Bakterien in Proopsonin	83
3.1.3.3 Vergleich des Bakterienwachstums in Poolserum mit dem Bakterienwachstum in Poolserum + Proopsonin	85
3.1.3.4 Vergleich des Bakterienwachstums in Patientenserum mit dem Bakterienwachstum in Patientenserum + Proopsonin	86
3.1.4 Untersuchungen über den Einfluß des Proopsonins auf die Opsonisierungspotenz von Poolserum und Patientenserum	89
3.1.5 Opsonisierungspotenz von Proopsonin gegen die Teststaphylokokken, verglichen mit der von Poolserum. Zum Vergleich auch die Bakterizidiekapazität der Granulozyten ohne Opsoninzusatz	97
3.1.6 Einfluß des Proopsonins auf die Bakterizidiekapazität von Patientengranulozyten in Abhängigkeit von deren Funktionszustand	99
3.2 In vivo Untersuchungen zur Frage des Proopsonineinflusses auf die Opsonisierungspotenz von Patientenseren	101
3.2.1 Patienten mit einmaliger parenteraler Proopsoninmedikation	103
3.2.2 Patienten mit wiederholter parenteraler Proopsoninzufuhr	106
D. Diskussion	120
1. Einführung	
2. Bedeutung spezifischer Immunglobuline und thermolabiler Serumsubstanzen in der Abwehr bakterieller Infektionen	121

3. Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei den verschiedenen Patientengruppen	126
3.1 Patienten mit primärer Immundefizienz	126
3.1.1 Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom	126
3.1.2 Patient mit septischer Granulomatose, sowie dessen Vater, Mutter und Schwester	127
3.1.3 Sechs Patienten mit bekannten Immundefekten	128
3.1.4 Eine Patientin mit Morbus Down	131
3.1.5 Drei Frühgeborene Patienten	132
3.2 Patienten mit sekundärer Immundefizienz	134
3.2.1 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie	134
3.2.2 Ein Patient mit akuter myeloischer Leukämie und Myeloperoxidasemangel, sowie dessen Familienangehörige	135
3.2.3 Patienten mit thermischen Verletzungen	137
3.2.4 Zwei splenektomierte Patienten	138
3.2.5 Patientin mit Urämie und Nephrektomie	139
3.2.6 Patient mit Diabetes mellitus	140
3.3 Patienten ohne diagnostizierte Immundefizienz	141
3.3.1 Patienten mit rezidivierenden Staphylokokken-Hautabszessen	141
3.3.2 Neun Patienten mit bakterieller Sepsis	142
3.3.3 Neun Patienten mit verschiedenen Infektionen	143
4. Untersuchungen mit Proopsonin	147
4.1 In vitro Untersuchungen	147
4.1.1 Physikalisch-chemisches Profil von Proopsonin	147
4.1.2 Einfluß der Proopsoninkonzentration in der Proopsoninlösung auf die Ergebnisse des Phagozytose-Bakterizidie-Tests	147
4.1.3 Bedeutung thermolabiler und thermostabiler Serumopsoninfaktoren bei der Beurteilung von Proopsonin	148
4.1.4 Bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung von Proopsonin gegenüber Staphylokokkus aureus	149
4.1.5 Einfluß des Proopsonins auf die Opsonisierungsaktivität von Poolserum und Patientenserum, sowie Opsonisierungspotenz von Proopsonin allein gegenüber den Teststaphylokokken	149

4.1.6 Einfluß des Proopsonins auf die Bakterizidiekapazität	150
von Patientengranulozyten in Abhängigkeit von deren Funktionszustand	
4.2 In vivo Untersuchungen zur Frage des Proopsonineinflusses	151
auf die Serumopsoninaktivität	
4.3 Zusammenfassende Beurteilung von Proopsonin	152

F. Zusammenfassung

G. Literaturverzeichnis

A. EINFÜHRUNG

1. Reaktionsformen des Abwehrapparates auf bakterielle Infektionen.

Neutrophile Granulozyten und Monozyten sind vor allem an der Abwehr lokaler bakterieller und mykotischer Infektionen beteiligt, während das RES aufgrund seiner Lokalität (Blutstrombahn) und der Eigenschaft seiner Phagen (ortsständig) eine besondere Rolle bei Bakteriämie und Sepsis zu spielen scheint. Auch den Monozyten schreibt man eine Bedeutung bei der Abwehr septikämischer Infektionen zu (2,6a).

Nach dem histologischen Bild kann man zwei von der Art des Erregers abhängige Reaktionsformen des Abwehrapparates unterscheiden:

Sind Mykobakterien oder ähnliche Mikroorganismen (s.Tab. 1) abzuwehren, so reagiert der Körper mit granulomatösen Entzündungsherden; am Ort der

Mykobakterien
Brucellen
Salmonellen
Listeria monocytogenes
Yersinien
Francisella Tularensis
Pasteurella multocida

Tab. 1: Fakultativ-intrazelluläre Bakterien, nach Linke und Hahn (112).

Pneumokokken	E. coli
Streptokokken	Proteus sp.
Staphylokokken	Klebsiella sp.
Meningokokken	Enterobakter sp.
Gonokokken	Pseudomonas sp.
Hämophilus sp.	Serratia marcesc.

Tab. 2: Eitererreger (extrazelluläre Bakterien), nach Linke und Hahn (112).

Infektion sind vorherrschend Monozyten zu finden. Diese Art Erreger nennt man "fakultativ-intrazelluläre" Bakterien; sie haben die Fähigkeit, innerhalb von Phagozyten nicht immuner Organismen zu überleben und sich zu vermehren. Charakteristisches Begleitsymptom ist neben der Granulombildung die Immunität vom verzögerten Typ gegen diese Bakterien (z.B. bei Tbc). Die Monozyten müssen erst spezifisch gegen die betreffende Bakterienspezies aktiviert werden (aktivierter Makrophage), um diese Keime optimal abtöten zu können; an dieser Aktivierung sind T-Lymphozyten maßgeblich beteiligt (112,182).

Bei der zweiten Reaktionsform finden sich hauptsächlich die für unsere Untersuchungen interessierenden neutrophilen Granulozyten an der Infektionsstelle. Das Endstadium des Infektions- und Abwehrgeschehens ist ein Eiterherd, bestehend aus zerfallenen PMN und Bakterien. Die Verursacher dieser Reaktionsform sind pyogene Kokken und die Mehrzahl der gramnegativen Stäbchen (s.Tab. 2). Diese Art Erreger werden auch "extrazelluläre"

Bakterien genannt. Gegen sie üben unspezifische, in stärkerem Maße jedoch spezifische Antikörper (meist ist auch Komplement beteiligt) einen Schutzeffekt aus, indem sie über eine Opsonisierung der Bakterien diese einer beschleunigten Phagozytose und intrazellulären Abtötung zuführen (112).

2. Reaktionsfolge bei akuten lokalen Infektionen

2.1 Gefäßreaktion

Veränderungen am Gefäßsystem sind nötig, um die Abwehrzellen und Serumbestandteile an den infektiösen Fokus gelangen zu lassen: Bald nach dem Auftauchen von Bakterien oder bakteriellen Toxinen reagieren die Endgefäße (im Bereich der Kapillaren und Venolen von besonderer Bedeutung) mit Erweiterung, erhöhter Permeabilität, und die endothelialen Membranen zeigen eine erhöhte Adhäsivität gegenüber Leukozyten. Als Mediatoren dieser Prozesse kennt man vasoaktive Amine, das Kallikrein-Kinin-System und Produkte von Komplementfaktoren. Durch die erhöhte Permeabilität ist es auch höher molekularen Serumstoffen (Antikörper, Komplement) möglich, die Gefäße zu verlassen und sich im interstitiellen Raum zu verteilen (2,60,111). Nach anfänglich schnellem Durchströmen der erweiterten Gefäße kommt es schnell zu einem Abfall der Fließgeschwindigkeit bis zur Stase. Damit erhalten die Leukozyten die Möglichkeit, sich an die in ihrer Adhäsivität gesteigerten Endothelzellen anzulagern (Margination). Die Zellen durchwandern schließlich die Gefäßwand und häufen sich perivascular an (60,70).

2.2 Chemotaxis

Bei Interaktion von Proteinbestandteilen des Serumexsudats bzw. der interstitiellen Flüssigkeit mit den eingedrungenen Fremdorganismen entstehen Stoffe, die chemotaktische Eigenschaften besitzen. Aus dem Komplementsystem sagt man einem C3- und einem C5-Fragment (C3a, C5a), sowie dem

Komplementsystem: C3a, C5a	C567-Komplex diese Fähigkeit nach.
C567-Komplex	Weitere chemotaktisch wirkende Stoffe s.Tab. 3 (60,88,185,186,190,188,191).
andere Faktoren:	Die Phagozyten wandern entlang des Konzentrationsgradienten dieser chemotaktischen Substanzen zu dem Infektionsfokus (186). Die Monozyten reagieren gleich oder ähnlich den
lösliche bakterielle Faktoren, Produkte von mit Antigen stimulierten Lymphozyten, kollagenolytische Produkte, Lipopolysaccharide, u.a.	
Tab. 3: Chemotaktisch wirksame Faktoren, nach Niethammer et al. (142).	

PMN auf chemotaktische Reize mit gerichteter Migration. Jedoch erscheinen die PMN wesentlich früher als die Monozyten am Ort des Infektionsgeschehens (erste Linie der zellulären Abwehr, neutrophile Kampfphase, etwa 1. - 4. Tag post infectionem). Monozyten finden sich erst später am Entzündungsherd ein (zweite Linie der zellulären Abwehr, monozytäre Überwindungsphase, Dauer etwa bis zum 7. Tag post infectionem) (60,162).

2.3 B- und T-Lymphozyten

Ins Gewebe infiltrierte Lymphozyten haben eine Schlüsselfunktion bei der Immunisierung gegen bakterielle Antigene und antigenwirkende bakterielle Toxine: T-Lymphozyten werden als die Träger der zellständigen Immunität betrachtet. Für die humorale Immunität sind die B-Lymphozyten von Bedeutung; aus ihnen gehen nach Kontakt mit Antigenen neben anderen (z.B. "memory cells") die antikörperproduzierenden Plasmazellen hervor. Gegen die Antigene der meisten beim Menschen anzutreffenden Bakterienspezies erreicht auf diese Weise der gesunde Mensch schon in den ersten Monaten bzw. Jahren seines Lebens einen mehr oder weniger hohen Antikörpertiter (57,60,112).

2.4 Opsonisierung

Zur Erreichung einer optimalen Phagozytose der Bakterien durch PMN sind Opsonine nötig. Zu den opsonisierenden Stoffen zählt man die unspezifischen Antikörper und die spezifisch gegen die bakteriellen Antigene gerichteten Immunglobuline vom IgG und IgM Typ. Viele Bakterien benötigen für ihre optimale Opsonisierung auch Komplementfaktoren. Phagozytosesteigernd wirken hiervon Spaltprodukte von C3 (C3b) und von C5 (9,126). Das Komplementsystem kann dabei auf dem klassischen Wege (C142-Komplexbildung, dieser Komplex aktiviert C3) oder über Nebenschlußreaktionen ("alternate pathway"), z.B. über das Properdinsystem, aktiviert werden. Es ist anzunehmen, daß Immunglobuline vom IgM Typ als sogenannte frühe Antikörper in der frühen Abwehrphase eine dominierende Rolle bei der Immunopsonisierung von Bakterien spielen, in der späteren Phase des Abwehrgeschehens könnten dann jedoch IgG- und IgA-Immunglobuline an Bedeutung gewinnen. Es wird diskutiert, ob nicht die Immunglobuline vom IgG-Typ die bedeutendere Rolle spielen bei der Immunopsonisierung, da IgG in höheren Konzentrationen im Serum vorhanden ist und wegen seines kleineren Molekulargewichts leichter als IgM in den extravaskulären Raum gelangen kann (2,35,75,84,159). Zur Opsonisierung siehe auch Abb. 1 und 2 .

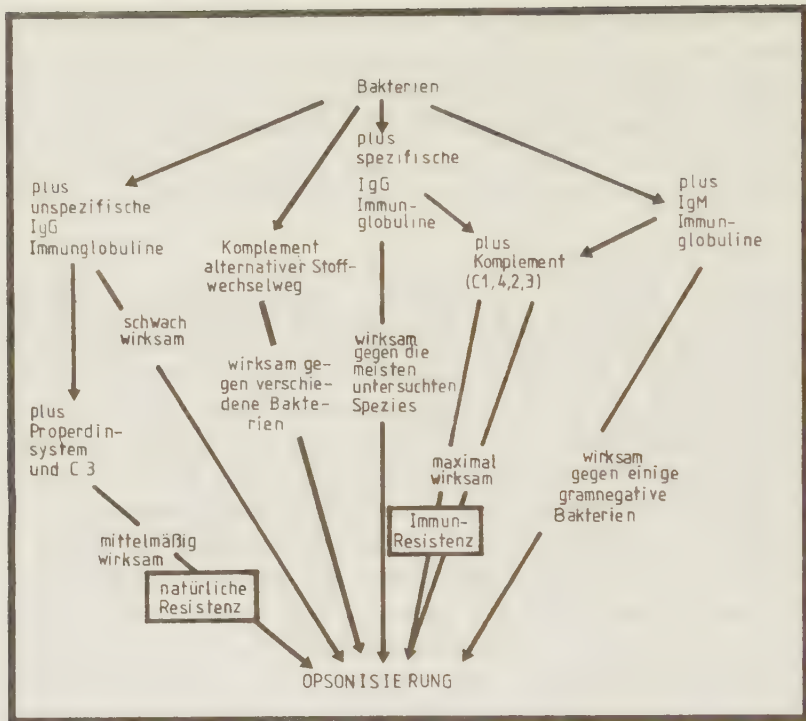


Abb. 1: Schematische Darstellung der Opsonisierung von Bakterien durch Immunglobuline und Komplementfaktoren, modifiziert nach Alexander (2).

2.5 Phagozytose

Auf der Membran von Phagozyten konnten Rezeptoren für IgG (Fc-Stück) und für Komplementfaktoren (C3) nachgewiesen werden (2). Nach Kontakt der opsonisierten Bakterien mit der Phagozytenmembran wird der Phagozytosevorgang eingeleitet. Stimulierend auf die Phagozytose wirken neben den Opsoninen auch manche Medikamente (Ampicillin bei Makrophagen (97); Esberitox^R (157)) und das Tuftsinpeptid, das sich aus Leukokinin ableitet, einem Gammaglobulin, von dem, an der PMN-Oberfläche anhaftend, durch Leukokininase das Tuftsinpeptid abgespalten wird (36,54,55,138). Zum Phagozytosevorgang siehe auch Abb. 2.

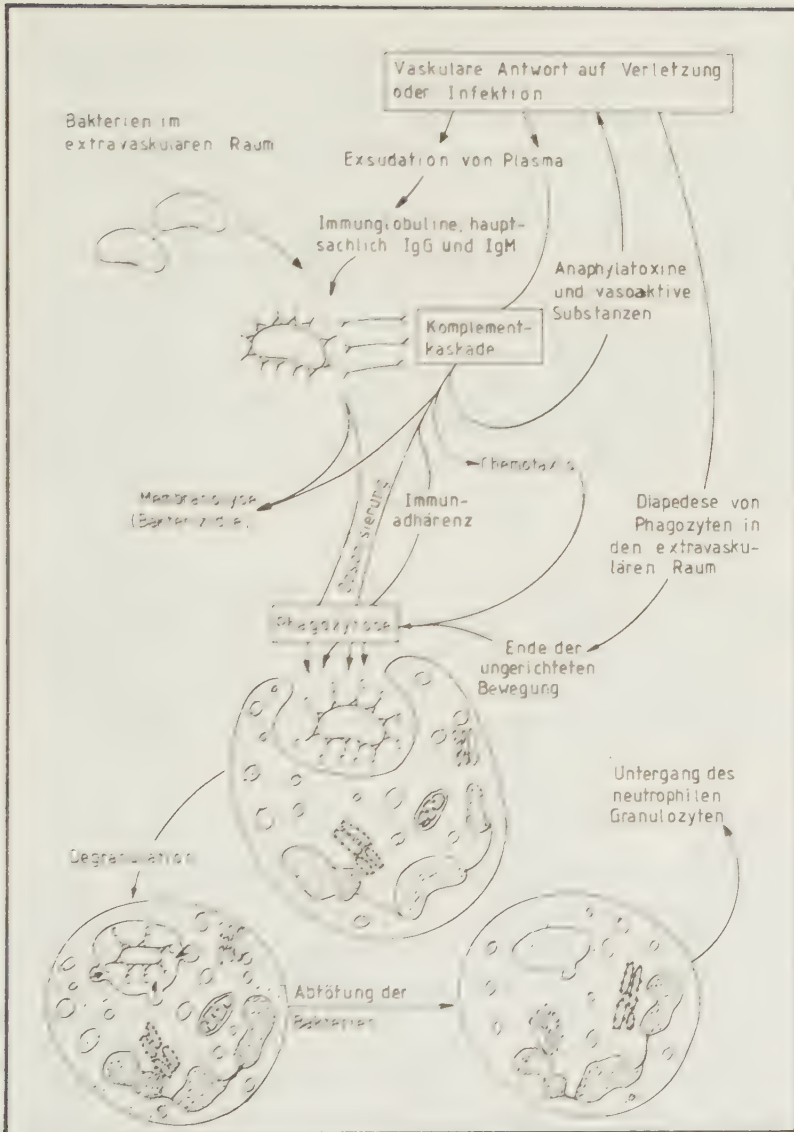


Abb. 2 : Schematische Darstellung der Abwehrmechanismen gegen bakterielle Erreger. Neutrophile Granulozyten als Phagozyten. Modifiziert nach Alexander (2).

2.6 Granulozytäre Stoffwechselveränderungen

Die Phagozytose ist ein aktiver Prozeß, der Energie in Form von ATP benötigt (66). Vor Beginn des Phagozytosevorganges stammt das ATP wohl noch aus der aeroben Glykolyse der spärlich in den Fresszellen vorhandenen Mitochondrien (Ruhestoffwechsel zu 70% in den Mitochondrien) (34, 87, 169, 172). Sehr bald, nach Kontakt der Mikroorganismen mit der Phagozytenmembran, kommt es in den Fresszellen zum sogenannten "metabolic burst". Unter diesem Begriff versteht man verschiedene, explosionsartig ablaufende Veränderungen im Stoffwechsel der Phagozyten: Als energieliefernder Prozeß tritt nun die anaerobe Glykolyse ganz in den Vordergrund. Glukose- und O_2 -Verbrauch sind wesentlich gesteigert; Laktatproduktion und Glukose-1-G-Oxidation (HMP) sind ebenfalls vermehrt. Die Bildung von H_2O_2 , eine der vielen bakteriziden Substanzen in den PMN, wird stimuliert (19, 79, 87, 150, 163, 202). Siehe hierzu auch Abb. 3.

2.7 Ingestion

Die Membran des Phagozyten stülpt sich beim Fressvorgang um das Bakterium bzw. die Bakterien. So entsteht eine Vakuole mit Bakterien als Inhalt (= Phagosom). Granula des Phagozyten mit antimikrobiellen Substanzen als Inhalt lagern sich an die Vakuole an und verschmelzen schließlich mit ihr (= Phagolysosom), der Granulainhalt ergießt sich in die Vakuole (142). Siehe auch Abb. 2 und 3.

2.8 Bakterizide Mechanismen im neutrophilen Granulozyten

Ein Teil des produzierten H_2O_2 perfundiert in das Phagolysosom und ist dort zusammen mit MPO wesentlich an der Abtötung von Mikroorganismen beteiligt (142). Das H_2O_2 entsteht entweder durch den sprunghaften Anstieg der Zellatmung ("respiratory burst", HMP, NADP/NADPH) oder es stammt von katalasennegativen Bakterien, die es in ausreichender Menge produzieren (142). Für die antimikrobielle Potenz der MPO sind neben H_2O_2 noch Halogenionen (Jod ist am wirksamsten (92)) als oxidierbarer Kofaktor notwendig (142). Das Superoxidanion (O_2^-) scheint ebenfalls eine Rolle bei der intrazellulären Abtötung zu spielen (83). Ein Abfall des pH-Wertes in der Vakuole, wahrscheinlich hervorgerufen durch die vermehrte Laktatbildung im PMN, kann zur Abtötung säureempfindlicher Mikroorganismen beitragen (81, 115, 171, 180). Zur H_2O_2 -Bereitstellung siehe Abb. 3.

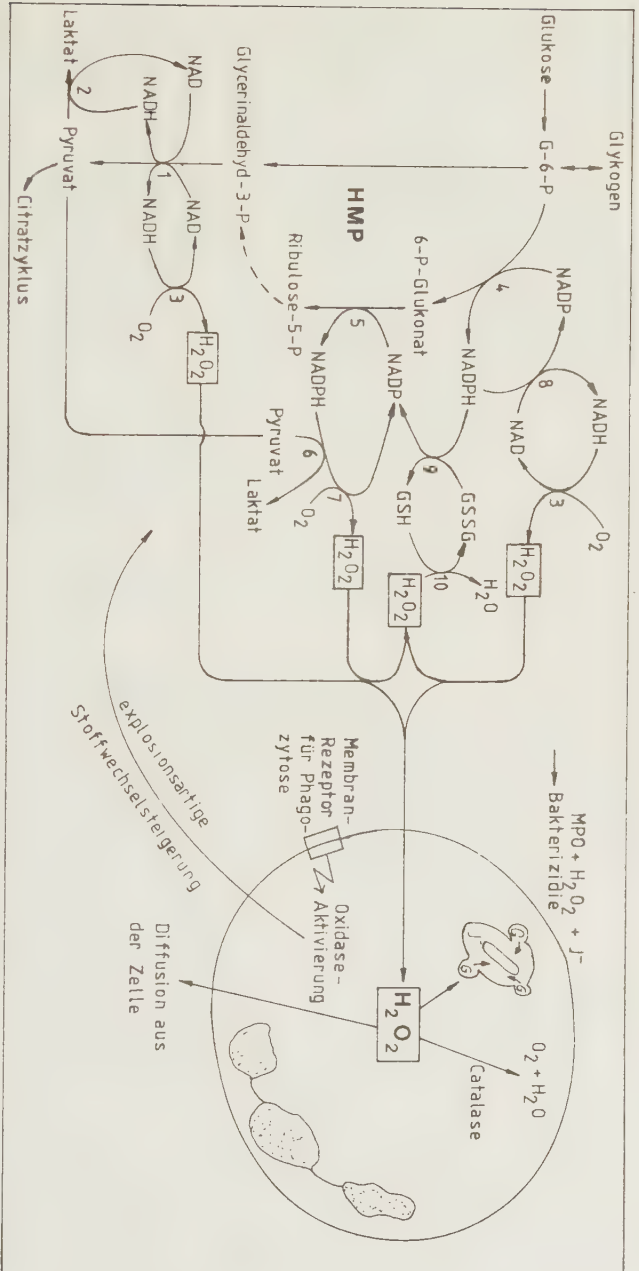


Abb. 3: Stoffwechselwege im Granulozyten unter besonderer Berücksichtigung des Hexose-Monophosphat-Shunts (HMP) und der Bereitstellung von Wasserstoffsuperoxid, sowie dessen metabolische Aktivitäten. G = Granula mit Peroxidase und anderen mikrobiellen Substanzen, I⁻ = Iodion, MP0 = Myeloperoxidase, 1 = Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase, 2 = NADH-gebundene Laktat-Dehydrogenase, 3 = NADH-Oxidase, 4 = Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, 5 = 6-Phosphoglukonat-Dehydrogenase, 6 = NADPH-gebundene Laktat-Dehydrogenase, 7 = NADPH-Oxidase, 8 = NADPH-NAD-Transhydrogenase, 9 = Glutathion-Reduktase, 10 = Glutathion-Peroxidase. Modifiziert nach Klebanoff (94), Niehämmer et al. (142) und Baehner (11).

Nichtenzymatisch wirksame Proteine wie Phagozytin (74), isoliert aus Kaninchenleukozyten, und Leukin (175), ebenfalls aus Kaninchenleukozyten isoliert, tragen zur Abtötung von Mikroorganismen bei. Bakteriostatisch wirkt Laktoferrin, wenn es nicht ganz mit Eisen abgesättigt ist (119,144).

An enzymatisch wirksamen Substanzen, welche antimikrobielle Aktivitäten entfalten, sind die MPO und das Lysozym bekannt.

Myeloperoxidase (MPO) besitzt bakterizide (93), fungizide (93) und viruzide (20) Potenz.

Lysozym, eine Muramidase, hydrolysiert die Mukopolysaccharide der Zellwand mancher Bakterien. Die Anzahl der empfindlichen Bakterien ist klein. Bestimmte gramnegative Bakterien, die normalerweise gegen die lytische Aktivität des Lysozyms insensitiv sind, werden sensitiv durch das Vorbehandeln mit spezifischen Immunglobulinen und Komplement (136) oder mit Ascorbinsäure und H_2O_2 (131). In den meisten Fällen ist es jedoch Aufgabe des Lysozyms, zur Verdauung von Bakterien beizutragen, welche auf anderem Wege abgetötet worden sind (94).

2.9 Weiteres Schicksal der neutrophilen Granulozyten

Im weiteren Verlauf folgt nach Verdauung der getöteten Mikroorganismen der Untergang der neutrophilen Granulozyten: Die Vakuolen werden undicht und entleeren ihren Inhalt in den Granulozyten, der dadurch zerstört wird (Autolyse). Dieser Untergang führt dann erneut zur Freisetzung chemotaktisch wirkender Substanzen, was zur weiteren Anlockung von Granulozyten und Monozyten führt (47,142,145,187).

Störung der	angeborene Defekte	erworbene Defekte
Chemotaxis	Chediak-Higashi-Syndrom, Lazy-Leukocyte-Syndrom, Job-Syndrom, Fehlen chemotaktischer Substanzen (C3a, C5a), Hemmfaktoren (gegen PMN und chemotaktische Sub- stanzen), Neugeborene,	Diabetes mellitus, Rheumatoide Arthritis und Lupus erythematodes, Tumoren, Plasmocytom, erworbene Agammaglobulinämie, Nierenerkrankungen, Urämie, Verbrennungen, terminaler Schock, Masern, Medikamente (Chloroquin, Phenylbutazon), Histamin, Alkohol,
Opsonisie- rung	Komplementdefekte (C3, C5), Sichelzellenämie (Pneumokokken), Humorale Immundefekte,	Lupus erythematodes
Phagozytose	Morbus Down, Tuftsin-Mangel, Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie,	Lupus erythematodes, Urämie, Bestrahlung, Splenektomie? (Tuftsinmangel)
Degranulie- rung	Chediak-Higashi-Syndrom, Septische Granulomatose des Kindesalters,	Colchicin, Steroide (?),
Abtötung von Mikro- organismen	Septische Granulomatose des Kindesalters, Enzymmangel (NADH-Oxi- dase, Glukose-6-P-De- hydrogenase, Glutathion- peroxidase), Lipochrome Histiocytose, Job-Syndrom, MPO-Mangel, Chediak-Higashi-Syndrom, Neugeborene (E. coli), IgA-Mangel (?), Hemmfaktoren (gegen Phagenstimulierung),	Diabetes mellitus, Leukämien, Nephrotisches Syndrom, Bestrahlung, Proteinmangel, MPO-Mangel (bei refraktären, megaloblastären schweren Anämien), Anämie, AMI, Verbrennungen, "Linksverschiebung" (schwere bakterielle Infektionen), Medikamente (Steroide, Phe- nylbutazon, Sulfonamide),

Tab. 4: Übersicht über angeborene und erworbene Granulozytenfunktionsstörungen. Nach Niethammer et al. (142).

3. Störungen des Abwehrprozesses

Angeborene und erworbene Störungen können an vielen Stellen des Abwehrprozesses auftreten. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über einige der bekannten angeborenen und erworbenen Granulozytenfunktionsstörungen. Patienten mit einer Granulozytendysfunktion, ob es nun die Mobilisierung ihrer Abwehrzellen, Chemotaxis, Opsonisierung, Ingestion, Degranulation, Peroxidation oder Bakterienabtötung betrifft, sind prädisponiert für häufig rezidivierende, schwere pyogene Infektionen (181).

Im allgemeinen ruft eine Störung in einem bestimmten Abwehrschritt ein charakteristisches klinisches Bild hervor.

3.1 Mobilisierungsstörungen von Phagozyten

Für den Schweregrad der Erkrankung ist mit entscheidend, ob nur eine der beiden Phagozyten-Arten (PMN, Monozyten) einen Defekt aufweist oder ob beide betroffen sind (181).

3.1.1 Erste Linie der zellulären Abwehr (neutrophile Granulozyten) betroffen

Als ein Beispiel einer selektiven Mobilisierungsabnormalität kann man die chronisch-idiopathische oder zyklische Neutropenie betrachten, wo nur die Zellen der ersten Linie der zellulären Abwehr betroffen sind; bei dieser Erkrankung fehlen, wie bei Störungen der Chemotaxis, die neutrophilen Granulozyten am Infektionsort, diejenigen Zellen also, welche am aggressivsten auf chemotaktische Stimuli reagieren. Die Monozyten zeigen im Rebuck'schen Hautfenster-Test ("skin window") in vivo eine normale Migration. Bei diesen Störungen leiden die Patienten an milden, nicht häufigen Infektionen der Haut und der Schleimhäute (41,181).

3.1.2 Zellen der ersten (neutrophile Granulozyten) und der zweiten Verteidigungslinie (Monozyten) betroffen

Patienten mit einer Mobilisierungsstörung beider Phagozyten-Arten leiden an sehr ernsten Infektionen bis zu schwersten septikämischen Prozessen mit virulenten und opportunistisch-pathogenen Organismen (181).

3.1.3 Störung der nicht gerichteten Migration

Ist die nicht gerichtete Migration ("random migration") gestört, so können die betreffenden Zellen nicht aus dem blutbildenden Knochenmark aus-

geschwemmt werden; in der Blutbahn kommt es zur Verarmung an diesen Zellen, die Folge ist eine Abwehrschwäche des Patienten gegen Mikroorganismen.

3.1.4 Störung der gerichteten Migration

Bei einer Störung der gerichteten Migration (Chemotaxis) vermögen sich die Zellen nicht aktiv in Richtung auf einen chemotaktisch aktiven Fokus hin zubewegen; dieser Defekt läßt sich mit der Methode des "skin window" nachweisen. Ward und Schlegel (193) beschrieben ein Kind mit wiederholten Hautinfektionen und Pneumonien, hauptsächlich durch Klebsiellen und E. coli; sie konnten in den Zellen des Patienten einen Defekt der leukotaktischen Antwortfähigkeit nachweisen.

3.1.5 Störung chemotaktischer Faktoren

Liegt ein Fehler bei den chemotaktisch wirksamen Substanzen vor (C3a, C5a), so gelangen die Abwehrzellen wegen des fehlenden Stimulus in nur ungenügender Anzahl an den Infektionsort, somit können sie ihre antimikrobielle Wirkung nicht entfalten.

3.2 Störung der Opsonisierung

Die Ingestion von Bakterien durch PMN und Monozyten ist bei Patienten mit fehlenden Serumopsoninen vermindert. Diese Patienten leiden unter anderem an rezidivierenden Infektionen des Respirationstrakts. Der Opsonisierungsdefekt kann seine Ursache in einem Mangel an Immunglobulinen haben, auch fehlende Komplementfaktoren (C3, C5) bzw. Störungen im Ablauf der Komplementaktivierung (C142-Komplex spaltet C3 in das opsonisierend wirkende C3b- und in das chemotaktisch wirksame C3a-Fragment) können den Defekt verursachen (64).

3.3 Störungen im intrazellulären Bakterizidie-System

Liegen Störungen im intrazellulären Bakterizidie-System vor, so können je nach Art des Defektes bestimmte Mikroorganismen nicht abgetötet werden. Bei der septischen Granulomatose (CGD = Chronic Granulomatous Disease) produzieren PMN und Monozyten kein H_2O_2 und können deshalb unter anderem keine katalase-positiven Bakterien abtöten; diese Patienten leiden an schweren, rezidivierenden, eitrigen Infektionen der Haut und der

viszeralen Organe (82,181).

4. Fragestellung unserer Untersuchungen

Von unseren Untersuchungen mittels des Bakterien-Phagozytose-Bakterizidie-Tests erhofften wir uns Aufschlüsse über Granulozytenfunktionsstörungen und Serumdefekte (Opsonisierungsdefekte) bei verschiedenen Erkrankungen. Außerdem sollte untersucht werden, ob serumabhängige Defekte durch einen Extrakt menschlichen Serums, Proopsonin⁺, kompensiert werden können, bzw. ob nach Proopsoninzugabe zu Serum eine Steigerung der Phagozytose-Bakterizidie-Rate erreicht werden kann. Der Einfluß des Proopsonin wurde in vitro und in vivo bei verschiedenen Patientengruppen untersucht.

+

Proopsonin - eine Firmenbezeichnung für eine Testsubstanz, die, als Extrakt menschlichen Serums, Immunglobuline und andere opsonisierende Serumbestandteile enthält.

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Patientengruppen (s.a. Tabelle 5)

Die untersuchten Patienten wurden entweder unter dem klinischen Aspekt einer vermehrten Infektionsanfälligkeit ausgewählt oder die Patienten litten an einer Krankheit, bei der eine definierte Serum- oder Granulozytenfunktionsstörung bekannt war. Die meisten Patienten waren im Dr. von Haunerschen Kinderhospital der Universitäts-Kinderklinik München in ambulanter oder stationärer Behandlung. Die für diese Untersuchungen interessierenden klinisch-anamnestischen Daten und Laborwerte der einzelnen Patienten werden bei den Versuchsergebnissen aufgeführt.

Das Patientenkollektiv besteht aus 51 Patienten; bei zwei Patienten wurden Familienmitglieder mitgetestet, um einen genetisch fixierten Pathomechanismus der Erkrankung auszuschließen oder zu bestätigen. 31 der Patienten waren männlichen Geschlechts, 20 waren weiblich.

Zur Beurteilung der Phagozytose-Bakterizidie-Raten bei den Patienten waren Kontroll-Untersuchungen mit gesunden Testpersonen nötig. Leukozyten- und Serum-Spender waren gesunde Mitarbeiter des Labors.

2. Material und dessen Herstellung

2.1 Testbakterien

Als Testbakterium wurde *Staphylococcus aureus* der pathogenen Stämme SG 511 und S 10 804 verwendet. Für den Test wurden die Bakterien in Standard-INährlösung kultiviert. Sie wuchsen 16 Stunden bei 37°C, wurden dann zweimal in PBS (Phosphate Buffered Saline) gewaschen und in HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) gelöst. Diese Suspension wurde dann am Photometer bei 0.620 nm auf eine Extinktion von $E = 0.6$ eingestellt. Von dieser Suspension wurden 0.20 ml in 4.80 ml HBSS gegeben; diese neue Lösung wurde bis zum Gebrauch in Eiswasser gestellt und im Kühlschrank aufbewahrt. Diese Bakterienlösung enthält etwa 2×10^7 vermehrungsfähige *Staphylococcus aureus* pro Milliliter.

Fallzahl	Diagnose
----------	----------

I. Primäre Immundefizienzen

4	Wiskott-Aldrich-Syndrom
1	Septische Granulomatose
1	Dysgammaglobulinämie
1	Hypogammaglobulinämie
1	Agammaglobulinämie
1	Chemotaxisdefekt mit Hyperimmunglobulinämie vom IgE-Typ
1	Partielle, kombinierte Immundefizienz (B- und T-Zell-System)
1	Kostmann-Syndrom
1	Morbus Down
3	Frühgeborene

II. Sekundäre Immundefizienzen

10	Akute lymphatische Leukämie
1	Akute myeloische Leukämie
2	Splenektomie (1 Hämolytische Anämie, 1 Morbus Hodgkin)
1	Verbrühungen 50%
1	Verbrennungen 30%
1	Diabetes mellitus
1	Urämie

III. Patienten ohne bekannte Immundefizienz

5	Rezidivierende bakterielle Infektionen der Haut
5	Bakterielle Sepsis
9	Infektionen verschiedener Art (1 Chron. Pneumonie, 1 Chron. rezidivierende Infektionen der Lungen und der oberen Luftwege und Sin. maxillaris, 1 Gastroenteritis, 1 Neurodermitis mit Fieber und Sin. maxillaris, 1 Rezidivierende Stomatitis, 1 Rundherd der Lunge unklarer Genese, 1 Cytomegalie, 1 Kuhmilch-Allergie mit asthmoider Bronchitis, 1 operativer Fall mit Harnwegsinfektion)

Tabelle 5: Gruppierung des Patientenkollektivs.

2.2 Poolserum

Zum Vergleich mit dem Patientenserum wurde bei jedem Versuch gepooltes Serum mitgetestet. Das Poolserum gewannen wir von 8 gesunden, erwachsenen Spendern; vier waren männlich, vier weiblich. Das Poolserum froren wir in Plastikröhrchen in Portionen zu 0.5 ml bei -30°C ein; es wurde am Versuchstag unter fließendem, kaltem Leitungswasser aufgetaut und 1 : 4 mit HBSS verdünnt (20-prozentiges Serum).

2.3 Patientenserum

Für die Gewinnung des Patientensersums wurde am Versuchstag Nativblut abgenommen und nach Standardbedingungen fraktioniert; dieses Serum wurde ebenfalls im Verhältnis 1 : 4 mit HBSS verdünnt.

2.4 Leukozytensuspension

Am Versuchstag wurden vom Patienten und von der Kontrollperson 10 - 15 ml Blut mit je einer sterilen 20 ml Plastikspritze entnommen, die Spritze wurde zuvor mit Heparin durchspült. Zu dem heparinisierten Blut wurde (im Verhältnis von etwa 2 : 1 = Blut : Dextran) 6% iges Dextran (Makrodex^R) gegeben. Die Spritzen wurden dann gekippt, um Blut und Dextranlösung zu mischen. Dann wurden die Spritzen aufrecht in den Brutschrank gestellt, um die Blutzellen bei 37°C für 30 - 40 Minuten sedimentieren zu lassen. Anschließend wurde die überstehende Plasmaschicht mit dem Dextran und den langsamer sedimentierenden Leukozyten über eine sterile Injektionsnadel in ein steriles Röhrchen (Falcon plastic tube 2025) abgepresst; die Nadel ist dabei um etwa 130° gebogen.

Diese Leukozytensuspension wurde dann für 7 Minuten mit 400 g zentrifugiert, der Überstand verworfen. Die Leukozyten wurden mit der Restflüssigkeit mittels Wirlmix gemischt und in jeweils 5 ml HBSS zweimal gewaschen (je 7 Minuten Zentrifugation mit 400 g). Nachdem der letzte Überstand abpipettiert war, wurden nochmals genau 5 ml HBSS zugegeben. Nun wurde mit der Leukozytenpipette bis zum Teilstrich 0.5 Essigsäure aufgenommen und damit dann bis zum Teilstrich 11 von der Leukozytensuspension eine Probe

entnommen. Die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten wurden dann in einer Neubauer-Kammer gezählt und ihre Anzahl pro Milliliter errechnet. Die Leukozytensuspension wurde daraufhin auf eine Konzentration von 5×10^6 segmentkernige Granulozyten pro Milliliter gebracht.

2.5 HBSS und PBS

Die verwendete HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) stammte wie PBS (Phosphate Buffered Saline) von Flow Laboratories. Die HBSS in pulverisierter Form wurde in 1 Liter aqua pro injectione gelöst und mit 10% igem Bicarbonat auf einen pH-Wert von 7.3 eingestellt. Anschließend wurde die Lösung sterilfiltriert.

3. Methoden

3.1 Phagozytose-Bakterizidie-Test

Unsere Untersuchungen zur Funktion der Granulozyten und der Serumopsonine basieren auf dem Phagozytose-Bakterizidie-Test, Untersuchungen zur Chemotaxis wurden in einer gesonderten Arbeit vorgenommen.

3.1.1 Im Testverfahren verwendete Lösungen und Suspensionen

1. Leukozytensuspension Patient (5×10^6 PMN/ml)
2. Leukozytensuspension Kontrolle (5×10^6 PMN/ml)
3. Poolserum (20% ig)
4. Patientenserum (20% ig)
5. Proopsonin (1 : 11,5 verdünnt; vom Hersteller empfohlene Infusionskonzentration, entspricht einer Proteinkonzentration von 1 g%; Verdünnung mit isotoner NaCl-Lösung)
6. Phosphatpuffer (zum Auffüllen des Volumens)
7. Bakteriensuspension (etwa 2×10^7 vermehrfähige Staphylokokkus aureus pro ml)

3.1.2 Versuchsablauf (siehe auch Abb. 4)

Die oben angegebenen Lösungen und Suspensionen wurden nach Testblatt-Muster I oder II kombiniert (siehe Tab. 7). Bei den "indirekten Tests" entfielen die Ansätze mit den segmentkernigen Granulozyten des Patienten. Von "direktem Test" spricht man, wenn auch die Segmentkernigen des Patienten untersucht werden konnten und nicht nur sein Serum.

Als Reagenzröhrchen wurden sterile Falcon plastic tubes 2027 verwendet. Die Bakterien wurden jeweils als letztes in die Teströhrchen pipettiert. Sofort nach dem Einbringen der Bakterien wurden nach Mischung des Röhrcheninhalts mittels Wirlmix jeweils 0.001 ml mit einer Mikroliterpipette entnommen. Diese Proben wurden in je 1 ml aqua destillata (pro injectione) gebracht, um die Granulozyten zu zerstören und dadurch alle zu diesem Zeitpunkt noch lebens- und vermehrungsfähigen Bakterien frei in aqua destillata gelöst zu haben.

Nach der Probeentnahme wurden die Teströhrchen mit dem Inkubationsgemisch (PMV, Serum, Bakterien, Proopsonin, PBS) im Brutschrank bei 37°C bebrütet. Die Röhrchen befanden sich dabei auf der Plattform eines Rotators, der die Leukozyten und die Bakterien durch seine kreisend-rüttelnde Bewegung in Schwebe hielt und somit für einen häufigeren Kontakt der Phagozyten mit den Bakterien sorgte und eine Adhäsion der Granulozyten vermied. Nach 60 und nach 120 Minuten Bebrütung wurden für eine Untersuchung der zeitabhängigen Phagozytose-Bakterizidie wiederum jeweils 0.001 ml Proben entnommen und in aqua destillata gelöst.

Sofort nach Übertragen der Proben in aqua destillata wurden nach gründlichem Mischen hieraus mit einer Blutzuckerpipette 0.05 ml entnommen und auf mit Standard-I-Nähragar ausgegossenen Petrischalen ausgestrichen. Die Platten wurden über Nacht bei 37°C bebrütet; am nächsten Tag wurden die gewachsenen Kolonien ausgezählt. Wir gingen davon aus, daß jedes vermehrungsfähige Bakterium eine Kolonie bildet.

Es wurde unter sterilen Kautelen gearbeitet, um eine Kontamination der Lösungen und Suspensionen, der Proben und des Nähragars in den Petrischalen mit Fremdkeimen zu vermeiden.

I. Agentien, Lösungen und Nährmedien

1. Phosphatpuffer (PBS = Phosphate Buffered Saline)
Dulbecco's Formula (modified) without Magnesium and Calcium, sterile
von: Flow Laboratories, made in U.K.
2. HBSS (Hank's Balanced Salt Solution), in pulverisierter Form,
von: Flow Laboratories, made in U.K.
3. Proopsonin, eine Testsubstanz, enthält eine Pseudoglobulinfraktion
aus menschlichen Seren, (physikalisch-chemisches Profil s. Tab. 8)
von: Immuno AG, Wien
4. Gammaglobulin i.v., 10 ml 6% ige Lösung (Human),
vom: Schweizer Roten Kreuz, Bern
5. Macrodex^R, 6% mit 0.9% iger NaCl,
von: Knoll AG, Chem. Fabriken, 6700 Ludwigshafen
6. Essigsäure 0.3% ig, zur Leukozytenzählung,
aus der Hausapotheke
7. Heparin-Lösung, 5000 U.S.P.-E./ml, ohne Konservierungsmittel
aus der Hausapotheke
8. Standard-I-Nährbouillon (für die Mikrobiologie),
von: E. Merck AG, Darmstadt
9. Standard-I-Nähragar (für die Mikrobiologie),
von: E. Merck AG, Darmstadt

II. Geräte und Reagenzbehälter

1. Rotationsmischer 3300
von: Fa. Eppendorf
2. Wirlmix (Vortex Genie)
von: Bender & Hobein AG, München (Manufactured exclusively by Scientific Industries, Inc. Bohemia, N.Y. 11716 for Bender & Hobein AG)
3. Filter zum Sterilfiltrieren; Filter Unit, 0.20 Micron plain membrane
von: Nalge, Sybron Corporation, Rochester, N.Y. 14602, USA
4. Amicon Filtergehäuse, 10 ml Fassungsvermögen
und dazu passende
Amicon PM 10 - Filter
von: Fa. Amicon,
5. Falcon plastic tube 2025 und 2027
von: Falcon, 1950 , Williams Drive, Oxnard, CA. 93030, USA

Tab. 7 : Tabellarische Zusammenstellung der wichtigsten zum Phago-
zytose-Bakterizidie-Test benötigten Materialien (Übliche La-
boreusrüstung ist nicht erwähnt).

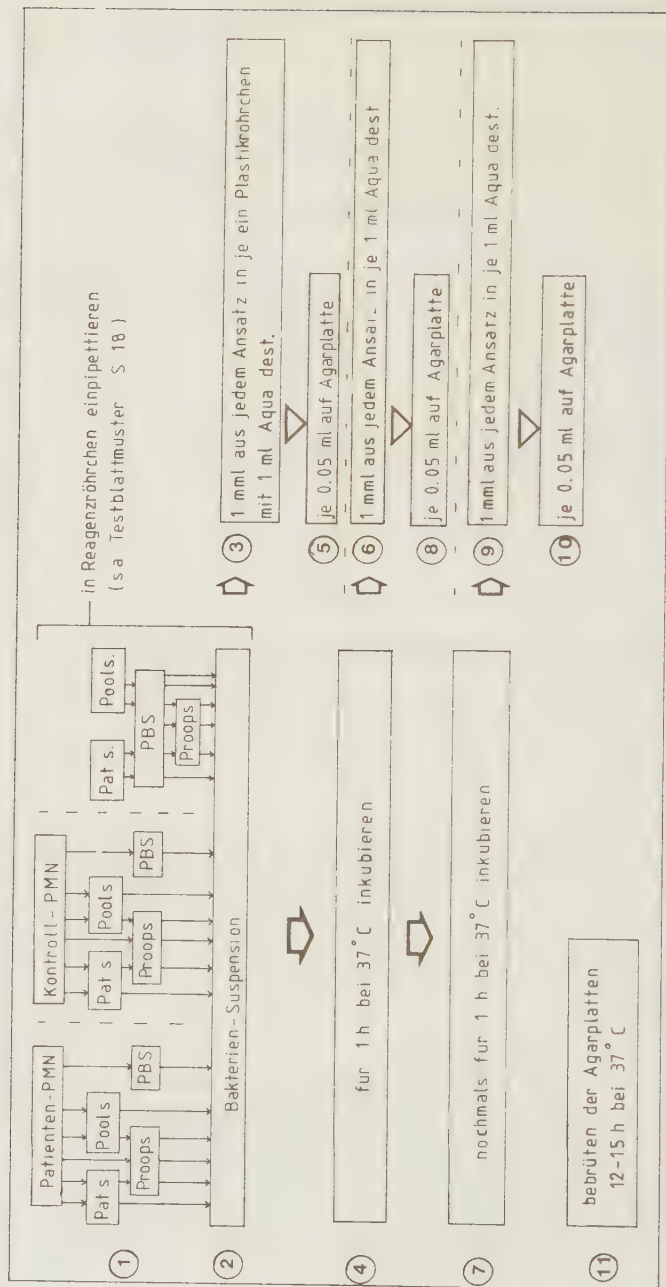


Abb. 4 : Schematische Darstellung des Versuchsablaufes (siehe auch unter Punkt B. 3.1.2 und Tab. 7).

○ = Reihenfolge der Arbeitsvorgänge; PMN = polymorphkernige neutrophile Granulozyten; Pat.s. = Patientenserum; Pools. = Poolserum; PBS = Phosphatpuffer; Proops. = Proopsin.

3.2 Auswertung der Testergebnisse

Phagozytose- und Bakterizidiedefekte, sowie Opsonisierungsstörungen äußern sich, im Vergleich zu den Kontrollansätzen, in einer erhöhten Überlebensrate der Testbakterien. Zur Bewertung der Serumopsoninaktivität wurden die Bakterizidieraten der Testansätze A mit B und F mit G verglichen, bzw. die Beträge der Differenzen dieser Ansätze errechnet und nach unten folgendem Schema in Schweregrade eingeteilt. Die Bewertung der Abtötungsrate der Granulozyten erfolgt nach dem gleichen Prinzip: Hier wurden die Testansätze A mit F und B mit G verglichen und die Differenzwerte errechnet (siehe auch Tab. 6, Seite 18). Testansätze ohne Serumzugabe sollen zur Orientierung die Phagozytose-Bakterizidierate ohne Opsonisierung der Bakterien aufzeigen. Das Wachstumsverhalten der Bakterien in Serum, Serum + Proopsonin, Proopsonin und PBS wird in den Ansätzen ohne Leukozytenzugabe beobachtet. Chemotaxisdefekte der Leukozyten dürften die Ergebnisse des Phagozytose-Bakterizidie-Tests wenig oder gar nicht beeinflussen, da der Kontakt PMN-Bakterium weniger durch die "directed migration" der Zelle, als vielmehr durch die Rüttelbewegung des Rotators zustande kommt (13a).

Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade:

- kein Defekt nachweisbar, PMN- bzw. Serumopsoninfunktionsraten des Patienten sind höher oder gleich denen der Kontrolle, oder sind um weniger als 5 %[⊗] niedriger als die der Kontrolle.
 - + PMN- bzw. Serumopsoninfunktionsraten des Patienten sind um 5 - 10 %[⊗] niedriger als die der Kontrolle.
 - ++ PMN- bzw. Serumopsoninfunktionsraten des Patienten sind um 10 - 20 %[⊗] niedriger als die der Kontrolle.
 - +++ PMN- bzw. Serumopsoninfunktionsraten des Patienten sind um 20 - 50 %[⊗] niedriger als die der Kontrolle.
 - ++++ PMN- bzw. Serumopsoninfunktionsraten des Patienten sind um über 50 %[⊗] niedriger als die der Kontrolle.
- () wegen Antibiotika im Serum nicht sicher zu beurteilen.
- ⊗ - Differenzen der Abtötungsraten zwischen den Patientenansätzen und den Kontrollansätzen.

Die Bakterizidierate ist definiert als Ab- bzw. Zunahme der Bakterienanzahl in Prozent nach 60 und nach 120 Minuten Inkubation.

3.3 Antibiotika in den Patientenseren

Sind in den Patientenseren Antibiotika vorhanden, so können sie die serumabhängigen Ergebnisse verfälschen, sofern die Antibiotika gegenüber den Teststaphylokokken eine antibakterielle Wirkung haben. Eine Beurteilung der opsonisierenden Fähigkeiten des Serums kann dadurch erschwert sein.

3.3.1 Auswaschung der Antibiotika

Bei einigen ausgewählten Seren versuchten wir deshalb, das im Serum vorhandene Antibiotikum über ein Amicon PM 10 Filter auszuwaschen:

0.5 ml des unverdünnten Serums wurden zusammen mit 9.5 ml steriler HBSS in das sterile Amicon-Filtergehäuse gegeben, diese Lösung wurde dann bis auf einen Rest von 0.5 ml durch das verwendete PM 10 Filter gepreßt. Dieses Filter hält Moleküle vom MG 10 000 zu etwa 95% zurück. Dieser Auswaschvorgang wurde dreimal durchgeführt.

Von dem nicht an Proteine gebundenen Antibiotikaanteil werden bei dieser Verfahrensweise theoretisch jeweils 95% mit dem abgepressten Volumenanteil entfernt und verworfen.

Nach dem dritten Waschvorgang wird das Serum auf die erwähnte Versuchskonzentration (20% ig) eingestellt.

Die antibakterielle Wirkung des Serums vor und nach Filtration wurde auf einer mit Teststaphylokokken bestrichenen Agarplatte getestet.

Poolserum wurde zum Vergleich ebenso behandelt (filtriert).

3.3.2 Rechnerische Möglichkeit, den Grad des Antibiotikaeinflusses auf die Bakterizidie-Rate zu beurteilen

Eine Beurteilung der Opsonisierungsfähigkeit des Serums trotz Antibiotikaeinfluß läßt sich aus folgender Überlegung herleiten:

Für eine optimale Phagozytose müssen beschädigte und unbeschädigte Bakterien erst opsonisiert werden. Die PMN phagozytieren unter Testbedingungen wahllos alle Bakterien, seien sie durch Antibiotika geschädigt oder noch lebens- und vermehrungsfähig.

Daraus kann man den Schluß ziehen, daß von den geschädigten wie von den intakten Bakterien der gleiche Prozentsatz durch die PMN phagozytiert und abgebaut wird.

Ferner kann man annehmen, daß das in den Seren enthaltene Antibiotikum in den Ansätzen mit PMN näherungsweise die gleichen Auswirkungen auf die Bakterienanzahl besitzt (bakterizide oder bakterio-statische Wirksamkeit) wie in den Ansätzen ohne PMN.

Somit kann man die Anzahl der nach 2 h Inkubation überlebenden Bakterien (in Prozent) in den Ansätzen Serum + PBS gleich 100% vermehrungsfähiger Bakterien setzen, die Bakterizidie-Rate (nach 2 h Inkubation) in den Ansätzen PMN + Serum minus die Bakterizidie-Rate (2 h Inkubation) in den Ansätzen Serum + PBS repräsentiert die phagozytierte und in den PMN abgetötete Bakterienzahl.

Ein Beispiel soll dies erläutern:

Im Ansatz, Patientenserum ohne PMN, war nach 2 h Inkubation eine Abnahme der Bakterienzahl um -50% zu verzeichnen; im Ansatz, Kontroll-PMN + Patientenserum, ergab sich nach 2 h Inkubation eine Abtötungsrate von -96%, also eine um die Zahl 46 höhere Abtötungsrate. Hieraus kann man schließen, daß 46/50 aller Bakterien phagozytiert und abgebaut wurden, also eine "bereinigte" Phagozytose-Bakterizidie-Rate von -92% erreicht wurde.

Dies kann in der folgenden Formel ausgedrückt werden:

$$\frac{(-96) - (-50)}{\frac{(-100) - (-50)}{(-100)}} = -92\%$$

Ergebnisse, die nach diesem Schema "bereinigt" wurden, können natürlich nur als Schätzwerte der tatsächlichen Opsonisierungspotenz von Seren dienen und wurden auch entsprechend gekennzeichnet.

4. Physikalisch-chemisches Profil von Proopsonin und Poolserum (s.a. Tab. 8, 9, 10)

Proopsonin wird aus einem Plasmapool von bekannten und klinisch überwachten Spendern durch verschiedene Reinigungs- und Konzentrationsvorgänge gewonnen. Es besteht aus einer Pseudoglobulinfraktion von menschlichem Plasma, die eine elektrophoretische Mobilität im Beta-Gamma-Bereich aufweist; zur Stabilisierung wird etwa 20% hitzeinaktiviertes Humanalbumin zugesetzt. Proopsonin weist einen Proteingehalt von 12.5% auf, 60% der Proteine sind Gammaglobuline. Nach Angaben des Herstellers enthält es keine antimikrobiell wirksamen Stabilisatorsubstanzen.

Proopsonin ist eine isotone, sterile Lösung einer Pseudoglobulinfraktion, die auf Verträglichkeit und Pyrogenfreiheit geprüft ist. Das Herstellungsverfahren schließt die Übertragung von Hepatitis B aus.

Aus den Ergebnissen der Proteinbestimmung (Tab.8), der Darstellung von Komplementfaktoren (Tab.9) und der Antikörpertiter-Bestimmung geht hervor, daß Proopsonin im wesentlichen ein Gammaglobulin-C3-Präparat ist.

Die Zusammensetzung der Serumproteine in Poolserum entspricht in etwa den Normalwerten für Erwachsenenserum. Für Albumin und IgG ergeben sich Werte über dem Normbereich; da sich jedoch fast alle Proteine der oberen Normmarke nähern, scheint ein methodischer Fehler vorzuliegen (Konzentrierung der Proteine durch Verdunsten von Wasser; beachte auch: Gesamtprotein in Poolserum 10198 mg%, in Proopsonin statt der erwarteten 12.5 g% den erhöhten Wert von 18411 mg%).

Protein	Erwachsenen-	gefundene Werte in	
	Norm (mg%)	Proopsonin (mg%)	Poolserum (mg%)
Albumin	3500-5500	64	6083
α_1 -Antitrypsin	200- 400	18	338
Heptaglobin	50- 220	225	117
Coeruloplasmin	20- 45	6	45
Makroglobulin	w. 150- 350 m. 175- 420	196	272
Glykoprotein	55- 140	0	58
Transferrin	200- 400	19	358
B1A-C, C3	80- 140	48	63
IgG	800-1800	14500	2350
IgA	90- 400	3100	266
IgM	w. 60- 250 m. 70- 280	205	248
IgD	0.3- 40	0	0

Tabelle 8: Serumproteinkonzentrationen in Proopsonin und dem in den Untersuchungen verwendeten Poolserum. (Konzentrationsangaben in mg%, Normbereich entspricht $\bar{x} \pm 2 \sigma$).

CH50	C1x10 ¹³) ⁺	C2x10 ¹¹) ⁺	C4x10 ¹³) ⁺	C1-Inakt. mg%	C4 mg%	C3c mg%	C3-Akt. mg%
--	0.06	--	0.002	--	--	48.0	--
(30-35)	(1-1.5)	(3-5)	(.9-1.3)	(35-45)	(30-40)	(75-85)	(15-25)

Tab. 9: Quantitative Bestimmung von Komplementkomponenten im Proopsonin (durchgeführt an der Abteilung für theoretische Medizin, Lehrstuhl für medizinische Mikrobiologie der Ruhr-Universität Bochum, Prof. Opferkuch).)⁺ hämolytisch effektive Moleküle pro ml. Normalwerte für Erwachsene sind in Klammern angegeben.

	E. coli	Klebs.	Proteus	Ps. aerug.	Staph. aureus
Proopsonin	1 : 640	1 : 320	1 : 80	1 : 2500	1 : 20
Poolserum	1 : 1280	1 : 320	1 : 160	1 : 640	1 : 10

Tab. 10: Antikörpertiter in Proopsonin und dem in den Untersuchungen verwendeten Poolserum. Die Bestimmung erfolgte mittels des Hämagglutinationstests.

C. ERGEBNISSE

1. Granulozyten- und Serumpopsoninfunktion der untersuchten Patienten

1.1 Patienten mit primärer Immundefizienz

1.1.1 Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS), 4 Fälle (s.Tab. 11 und Abb. 5)

Serumfunktion

Bei keinem der vier Patienten ist ein wesentlicher Opsoninmangel des Serums nachweisbar (s. Tab. 11, Ansatz B verglichen mit A und Ansatz G verglichen mit F). Nach 1 h Inkubation zeigen die Kontroll-PMN lediglich mit dem Serum des Patienten 2 eine geringere Bakterizidie-Rate als mit Poolserum (Betrag von der Differenz der Bakterizidie-Raten: $|F-G| = 25.5$). Mit den Seren der 3 restlichen Patienten weisen die Kontroll-PMN nach 1 h Inkubation eine höhere Abtötungs-Rate auf als mit Poolserum.

Nach 2 h Inkubation ist die Bakterizidie-Rate der Kontroll-PMN mit den Seren zweier Patienten (Patient 3 und 4) in geringem Grade niedriger als mit Poolserum (Differenz $|F-G| = 2.8$ bzw. 2.5); bei Patient 2 ist sie mit Patientenserum besser als mit Poolserum ($|G-F| = 6.2$); bei Patient 1 ist sie während der ersten Untersuchung mit Patientenserum besser ($|G-F| = 8.6$), während der zweiten Untersuchung etwa gleich der Abtötungs-Rate mit Poolserum.

Auch die Patienten-PMN von allen vier Patienten (Ausnahme: Patient 1a, 1 h Inkubation) erreichen mit eigenem Serum höhere Bakterizidie-Raten als mit Poolserum.

Das Antibiotikum im Serum des Patienten 1 (erste Untersuchung), siehe Ansatz M, im Gegensatz zu Poolserum, Ansatz L, beeinflusst die Ergebnisse der Untersuchung wenig: Nach Überlegung von Punkt B. 3.3.2, Seite 22, ergäbe sich für Ansatz G eine bereinigte Bakterizidie-Rate von 90.2 % statt 95.7 %.

Granulozytenfunktion

Bei Patient 1 zeigt sich bei der ersten Untersuchung ein schwerwiegender

An- satz	PMN	Serum	PBS	Patient 1a 1h 2h	Patient 1b 1h 2h	Patient 2 1h 2h	Patient 3 1h 2h	Patient 4 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-22.6 -25.8	-58.1 -62.0	-76.3 -88.5	-43.5 -88.7	-61.6 -63.3
B	Pat	Pat	-	+19.0 -33.3	-71.6 -85.2	-85.5 -92.7	-57.3 -87.2	-71.5 -78.4
F	Kon	Pool	-	-84.7 -87.1	-83.3 -90.2	-84.8 -90.9	-84.8 -92.4	-90.1 -95.1
G	Kon	Pat	-	-87.0 -95.7	-95.0 -90.1	-59.3 -97.1	-91.0 -89.6	-91.6 -92.6
L	-	Pool	+	- 228.9	- 313.8	- 51.6	- 442.6	- 322.5
M	-	Pat	+	- -55.9	- 278.8	- 77.1	- 476.9	- 288.3
PMN- und Serum- funktionsdefekte				PMN ++++ Serum (-)	PMN + Serum -	PMN - Serum -	PMN + Serum -	PMN ++ Serum -
Untersuchungsdatum				13.01.76	22.01.76	28.01.76	09.04.76	22.04.76
Name				S., Sven	S., Sven	B.	L., Thomas	K., Frank
Alter, Geschlecht				3 3/4 Jahre, m.		11 Jahre, m.	3 Jahre, m.	6 1/4 Jahre, m.
Kontrollperson				M.	M.	M.	M.	M.
Labor				40700 L 77% Seg	29500 L 83% Seg	13700 L 41% Seg Wundabstrich: Hämolyisierende u. nichthämol. Staphylokokken	11400 L Alb 70.1 50% Seg IgG 900 IgA 256 IgM 221 E.coli 1:20 Klebs. 1:10 Proteus 1:10	4900 L 36% Seg B1C-1A: 68 mg% E.coli 1:20 Klebs. 1:10 Proteus 1:10
Diagnose, Befund				WAS, Meningokokkensepsis mit Meningitis		WAS, Asthma, Osteomyelitis	WAS, rezidivie- rende Ekzeme	WAS, mikrocyt. Anämie, Herp. lab., E.B.-Virus
Therapie				Penicillin, Tobramycin, Chloro- amphenicol, Moronal ^R		Zur Zeit der Untersuchung keine Antibiotika		

Tab. 11 : Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei 4 Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS); Änderung der Bakterienzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumfunktionsdefekte in Schweregrade s.S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN; IgG, IgA und IgM in mg%. f. = feminin, m. = maskulin.

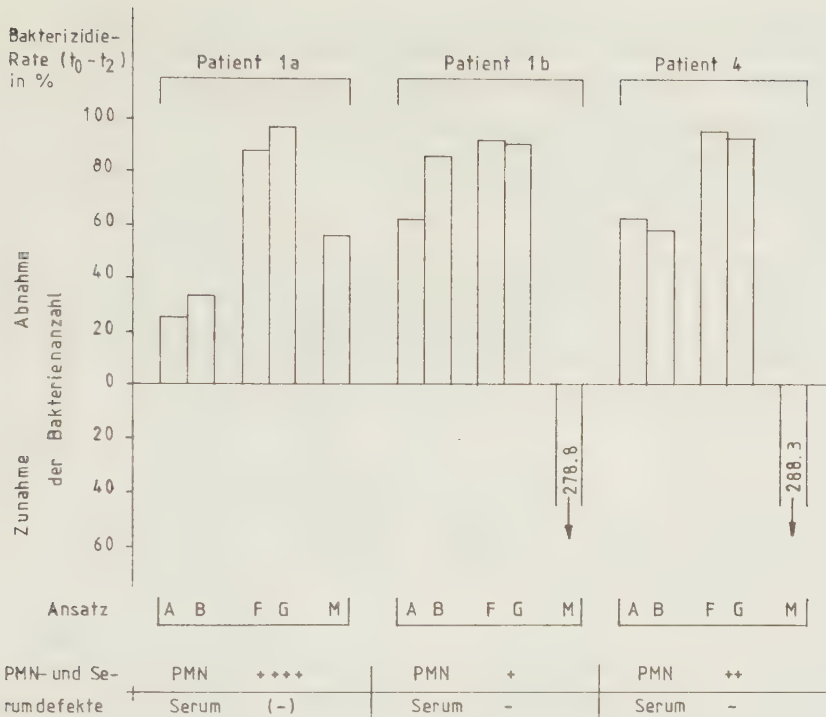


Abb. 5 : Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumfunktion von zwei Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom. Die Buchstaben A,B,F,G,M bezeichnen die Ansätze in der Tabelle 11. Einteilung der PMN- und Serumdefekte in Schweregrade siehe Punkt 8. 3.2, Seite 21..

Granulozytenfunktionsausfall (s. Tab. 11, Ansätze A und B, bei 60 und 120 Minuten Inkubation), seine PMN funktionieren mit Poolserum und mit Patientenserum etwa gleich schlecht (1h Inkubation: $|F-A| = 62.1$, $|G-B| = 106.0$; 2h Inkubation: $|F-A| = 61.3$, $|G-B| = 62.4$). Acht Tage nach der Erstuntersuchung hat sich die PMN-Funktion noch nicht ganz normalisiert, die Bakterizidie-Rate nach 2h Inkubation in Ansatz B (Patienten-PMN mit Patientenserum) nähert sich zwar der von Ansatz G (Kontroll-PMN mit Patientenserum) ($|G-B| = 4.9$), doch ist die Bakterizidie-Rate der Patienten-PMN mit Poolserum nach 2h Inkubation um 28.2 (%) ($|G-B|$) niedriger als die der Kontroll-PMN mit Poolserum. Auch nach 1h Inkubation ist die Abtötungs-

Rate der Patienten-PMN wesentlich niedriger als die der Kontroll-PMN. Die PMN der Patienten 2 und 3 haben nach 2h Inkubation, gemessen an den Ergebnissen mit den Kontroll-PMN, keine wesentlich erniedrigte Granulozytenfunktionsrate. Die PMN des Patienten 3 zeigen nach 1h Inkubation eine wesentlich erniedrigte Funktionsrate ($|F-A| = 41.3$, $|G-B| = 33.7$), während die PMN des Patienten 2 nach 1h Inkubation mit eigenem Serum eine relativ gute Funktion aufweisen.

Die PMN des Patienten 4 haben einen mittelgradigen Abtötungsdefekt (1h Inkubation: $|F-A| = 28.5$, $|G-B| = 20.1$; 2h Inkubation: $|F-A| = 31.8$, $|G-B| = 14.2$); mit eigenem Serum ist die Funktion seiner Segmentkernigen jedoch wesentlich besser als mit Poolserum (1h: $|B-A| = 9.9$; 2h: $|B-A| = 15.1$).

1.1.2 Patient mit septischer Granulomatose und drei Familienmitglieder (s. Tab. 12 sowie die Abbildungen 6 und 7)

Serumfunktion

Die opsonisierende Funktion des Serums von Patient 5 ist bei der zweiten Untersuchung (5b) mit Kontroll-PMN gut, jedoch arbeiten die Patienten-PMN mit eigenem Serum schlechter als mit Poolserum (5a/ 1h: $|A-B| = 9.3$, 2h: $|A-B| = 20.6$; 5b/ 1h: $|A-B| = 14.5$, 2h: $|A-B| = 7.1$), so daß sich ein Hinweis auf einen leichten Serumopsonindefekt ergibt.

Die opsonisierende Aktivität im Serum der Mutter (6) und der Schwester (7) ist gut, wobei das Serum der Schwester mit den PMN des Vaters eine sehr hohe Funktionsrate aufweist (s. Ansätze G). Die Bakterizidie-Rate der PMN des Vaters mit autologem Serum (8, Ansatz B) liegt nach 2h Inkubation geringgradig unter der mit Poolserum ($|A-B| = 4.2$).

Granulozytenfunktion

Der Patient 5 hat bei beiden Untersuchungen (5a,5b) einen sehr massiven Granulozytendefekt (5a/ 1h: $|F-A| = 77.2$, $|G-B| = 76.3$; 2h: $|F-A| = 102.2$, $|G-B| = 133.5$; - 5b/ 1h: $|F-A| = 74.8$, $|G-B| = 77.6$; 2h: $|F-A| = 84.1$, $|G-B| = 91$)

Bei Mutter und Schwester ist eine mittelgradige PMN-Funktionsstörung erkennbar (Mutter/ 1h: $|F-A| = 42.7$, $|G-B| = 16.8$; 2h: $|F-A| = 38.0$, $|G-B| = 13.0$; Schwester/ 1h: $|F-A| = 44.5$, $|G-B| = 55.1$; 2h: $|F-A| = 7.5$, $|G-B| = 12.7$).

An- satz	PMW	Serum	PBS	Patient 5a 1h 2h	Patient 5b 1h 2h	Mutter 6 1h 2h	Schwester 7 1h 2h	Vater 8 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-14.8 +21.2	-11.8 -10.7	-17.3 -27.8	-42.1 -87.3	-86.6 -94.8
B	Pat	Pat	-	- 5.5 +41.8	+ 2.7 -3.6	-48.1 -77.4	-72.7 -85.4	-87.5 -90.6
F	Kon	Pool	-	-92.0 -81.0	-86.6 -94.8	-60.0 -65.8	-86.6 -94.8	- - -
G	Kon	Pat	-	-81.8 -91.7	-74.9 -94.6	-34.1 -90.4	-97.2 -98.1	- - -
L	-	Pool	+	- 177.5	- 427.2	- 621.4	- 539.0	- 427.2
M	-	Pat	+	- -82.7	- 57.9	- 1174.1	- 362.1	- 482.6
PMW- und Serum- funktionsdefekte				PMW +++ Serum (++)	PMW +++ Serum +	PMW ++ Serum -	PMW ++ Serum -	PMW - Serum -
Untersuchungsdatum				05.10.76	25.10.76	25.10.76	25.10.76	25.10.76
Name				Sch. Stefan				
Alter, Geschlecht				3 1/2 Jahre, m.,		Alter nicht bekannt		
Kontrollperson				J.	Vater d.P.	Mo.	Vater d.P.	
Diagnose, Befund				Septische Granulomatose mit multiplen Leberabszessen		erhöhte Infektionsanfälligkeit		gesund
Therapie				Antibiotika		-	-	-

Tbl. 12 : Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei einem Patienten mit septischer Granulomatose, sowie bei dessen Vater, Mutter und Schwester; Änderung der Bakterienzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMW- und Serumopsonin-Funktionsdefekte in Schweregrade s.S. 21 . Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMW bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMW, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMW. m. = makkulin.

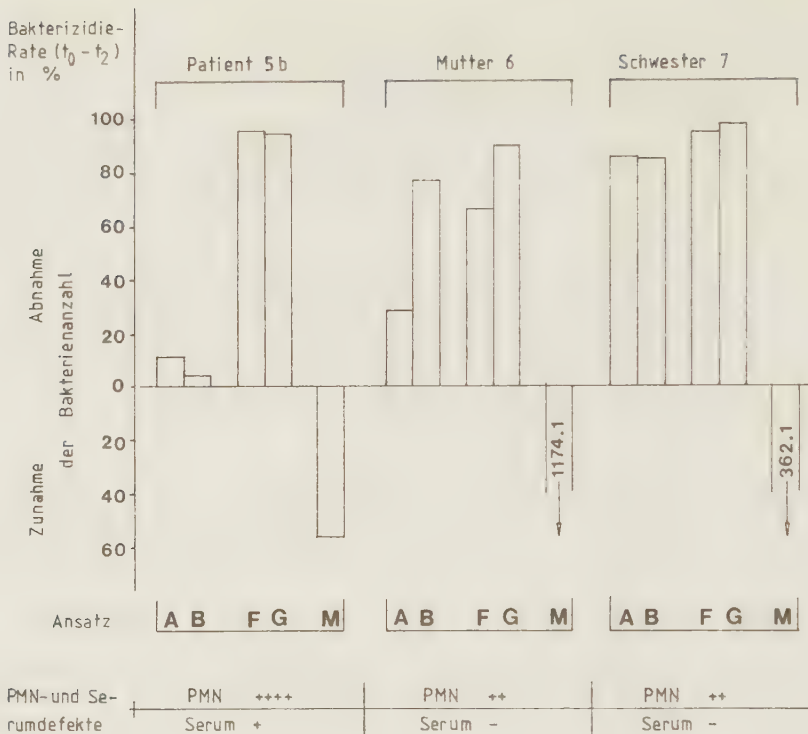


Abb. 6 : Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei einem Patienten mit septischer Granulomatose und dessen direkten Familienmitgliedern. Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tabelle 12. Einteilung der PMN- und Serumdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, Seite 21.

Die PMN des Vaters von Patient 5 zeigen mit Poolserum (s.Tab. 12, Ansatz A), mit dem Serum seines Sohnes (5b, Ansatz G) und dem seiner Tochter (7, Ansatz G) hohe Abtötungsraten, ein Defekt der Granulozytenfunktion ist nicht festzustellen.

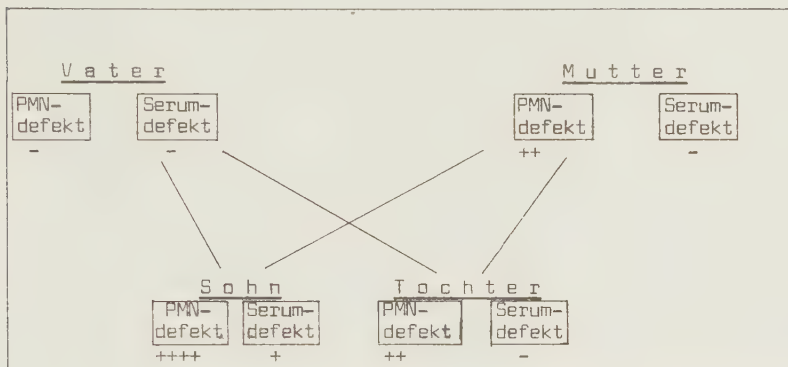


Abb. 7 : Darstellung der vermutlich x-chromosomal vererbten Granulozytenfunktionsstörung bei Patient 5 (septische Granulomatose). Einteilung der PMN- und Serumopsonin-Funktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit -, +, siehe unter Punkt B. 3.2 , S. 21 .

1.1.3 Sechs Patienten mit bekannten Immundefekten (siehe Tab. 13 und Abb. 8)

Serumfunktion (s.Tab. 13, Ansatz A verglichen mit B bzw. F mit G)

Das Serum des Patienten 9 zeigt mit Kontroll-PMN keine Opsoninaktivität (1h: $|F-G| = 128.7$, 2h: $|F-G| = 146.3$); mit Patienten-PMN zeigt das Patientenserum nach 1h Inkubation ebenfalls eine schlechte Opsoninfunktion ($|A-B| = 42.3$), nach 2h ist die Opsonisierungspotenz dagegen besser als die des Poolserums ($|B-A| = 3.7$), so daß keine klare Aussage über die Serumopsoninfunktion von Patient 9 gemacht werden kann.

Das Serum des Patienten 10 ist in seiner opsonisierenden Funktion gegenüber den Teststaphylokokken nicht eingeschränkt (1h: $|G-F| = 8.2$).

Auch die Serumopsoninfunktion des Patienten 11 ist mit Patienten-PMN bei

1h und 2h Inkubation, mit Kontroll-PMN bei 1h Inkubation besser als die von Poolserum (s. Tab. 13).

Die Beurteilung der Opsoninaktivität im Serum von Patient 12 wird durch den Antibiotikagehalt (s. Tab. 13, Ansatz M) erschwert. Nach Überlegung von Punkt B. 3.3.2, Seite 22, ergibt sich jedoch für Ansatz G, 2h Inkubation, eine bereinigte Bakterizidie-Rate von -91.7%, für Ansatz B eine solche von -79.0%. Diese bereinigten Werte liegen nur gering unter denen der Kontroll-Ansätze ($|A-B'| = 2.6$, $|F-G'| = 4.6$), so daß ein Serumopsonindefekt sehr wahrscheinlich nicht vorliegt.

Im Serum von Patient 13 ist ebenfalls kein Opsoninmangel festzustellen: In den Ansätzen mit Patientenserum werden mit Ausnahme in Ansatz B, 2h Inkubation, höhere Bakterizidie-Raten erzielt als mit Poolserum (s. Tab. 13).

Bei Patient 14 ist ein totaler Ausfall der Serumopsoninfunktion zu verzeichnen (1h: $|F-G| = 37.1$, 2h: $|F-G| = 248.4$).

Granulozytenfunktion (s. Tab. 13, Ansatz A verglichen mit F bzw. B mit G)

Die Granulozyten des Patienten 9 haben mit Poolserum und mit autologem Serum eine im Vergleich zu Ansatz F (Kontroll-PMN mit Poolserum) erniedrigte Bakterizidie-Rate, was für einen Abtötungsdefekt in den Patienten-PMN spricht. Die Werte in Ansatz B lassen sich mit denen in Ansatz G nicht vergleichen, da das Patientenserum mit Kontroll-PMN keine opsonisierenden Eigenschaften aufweist, mit autologen Granulozyten solche jedoch zeigt.

Bei Patient 10 wurde die Granulozytenfunktion nicht getestet.

Patient 11 hat keinen Abtötungsdefekt, seine PMN haben mit autologem Serum nach 1h Inkubation eine relativ hohe Funktionsrate (s. Ansatz B), nach 2h Inkubation eine höhere Bakterizidie-Rate als die Kontroll-PMN mit Poolserum oder mit Patientenserum.

Bei Patient 12 stört das im Serum enthaltene Antibiotikum die Beurteilung der PMN-Funktion mit autologem Serum. Bereinigt man (s. Punkt B. 3.3.2, Seite 22) die Bakterizidie-Rate von Ansatz B, 2h Inkubation, so erhält man einen ähnlich niedrigen Wert wie in Ansatz A (Patienten-PMN mit Poolserum), nämlich -79.0% statt -93.7%; dies spricht für eine Erniedrigung der Bakterizidie-Kapazität in den PMN des Patienten 12.

Die PMN des Patienten 13 zeigen mit Poolserum höhere Abtötungsraten als

An- satz	PMN	Serum	PBS	Patient 9 1h 2h	Patient 10 1h 2h	Patient 11 1h 2h	Patient 12 1h 2h	Patient 13 1h 2h	Patient 14 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-50.6 -71.8	- -	-76.7 -89.1	-89.7 -81.6	-90.0 -95.7	+ 2.2 240.1
B	Pat	Pat	-	- 8.3 -75.5	- -	-80.3 -94.9	-92.9 -93.7	-90.3 -91.9	+ 1.5 253.8
F	Kon	Pool	-	-62.5 -96.6	-73.1 -	-83.5 -91.6	-91.3 -96.3	-88.2 -94.1	-87.0 -94.0
G	Kon	Pat	-	+66.2 +49.7	-81.3 -	-86.3 -87.8	-87.7 -97.5	-94.6 -95.3	-48.9 154.4
L	-	Pool	+	- 160.0	134.1 -	224.1 548.1	- 396.9	- 117.8	- 778.0
M	-	Pat	+	- 82.0	310.0 -	209.3 518.6	- -70.0	- 115.1	- 533.8
PMN- und Serum- funktionsdefekte				PMN +++ Serum (+++)	PMN - Serum -	PMN - Serum -	PMN ++ Serum (-)	PMN - Serum -	PMN ++++ Serum ++++
Untersuchungsdatum				19.11.74	17.5.76	18.06.76	07.04.76	29.01.76	09.07.76
Name				K. Richard	Sch. Christian	Sch.	B.-F.	H. Susanne	K. Berna
Alter, Geschlecht				3 1/4 Jahre, m.	7 Jahre, m.	30 Jahre, m.	9 1/2 Jahre, m.	5 1/2 Jahre, f.	2 3/4 Jahre, m.
Kontrollperson				A.	M.	M.	M.	M.	M.
Labord				IgG 490 mg% ↓ IGA 35 mg% ↓ IGM 104 mg% ↓ Pseudo. 1: 20 Staph. < 1: 10	E. coli 1: 160 ↓ Klebs. 1: 40 ↓ Prot. 1: 40 ↓ Pseudo. 1: 20 ↓ Staph. < 1: 10	-	-	11500 L	-
Diagnose, Befund				Dys-Gammaglobulinämie	Hypo-Gammaglobulinämie (erworbene Form)	A-Gammaglobulinämie	Chemotaxisdefekt, Hyperimmunglobulinämie (IgE)	partielle Immundefizienz (B- und T-Zellsystem)	Kostmann-Syndrom
Therapie				-	-	Immunglobulinpräparat	Antibiotika	-	-

Tab. 13 : Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von sechs Patienten mit bekannten Immundefekten (s.a. unter Punkt C. 1.1.3, S. 33); Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; t_0 = 100%). Einteilung der PMN- und Serumdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. f. = feminin, m. = maskulin.

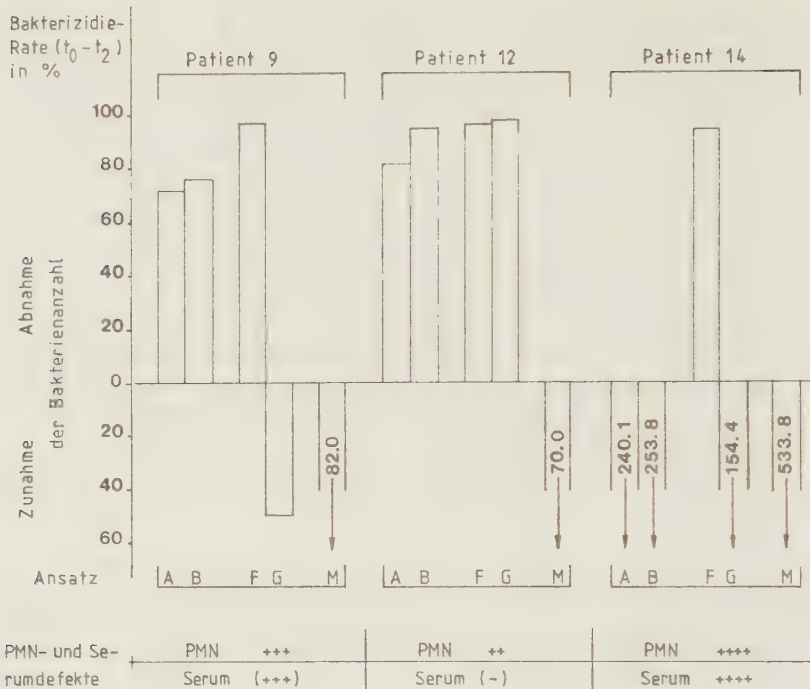


Abb. 8 : Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von drei Patienten mit bekannten Immundefekten. Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 13. Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, Seite 21.

die Kontroll-PMN (vergleiche in Tab. 13 Ansatz A mit F); mit autologem Serum ist die Funktionsrate der Patienten-PMN nur wenig niedriger als die der Kontroll-PMN mit gleichem Serum (1h: |G-B| = 4.3, 2h: |G-B| = 3.4); eine PMN-Funktionsstörung liegt bei Patient 13 somit nicht vor. Bei Patient 14 sieht man einen totalen Granulozytenfunktionsausfall (s. Tab. 13, Ansatz A und B).

1.1.4 Patient mit Morbus Down (s. Tab. 14 und Abb. 9)

Serumfunktion (Tab. 14, Ansatz A verglichen mit B bzw. F mit G)

Die Funktion der Serumopsonine der Patientin 15 kann wegen des Antibiotikagehaltes nicht endgültig beurteilt werden. Ansatz G, 2h, weist jedoch eine bereinigte Bakterizidie-Rate (s.u. Punkt 8. 3.3.2 , S. 22) von nur -73.1 % auf, so daß vermutlich doch eine leichte Serumopsoninfunktionsstörung vorliegt.

Granulozytenfunktion (Ansatz A verglichen mit F bzw. B mit G)

Die PMN der Patientin 15 zeigen mit Poolserum eine starke Erniedrigung ihrer Abtötungsrate (1h: $|F-A| = 7.7$, 2h: $|F-A| = 30.0$); auch mit autologem Serum ist die Bakterizidie-Rate erniedrigt (bereinigter Wert (s.S. 22) für Ansatz B, 2h : -62.9 %)

1.1.5 Drei Frühgeborene (s. Tab. 14 und Abb. 9)

Serumfunktion (Tab. 14, Ansatz F verglichen mit G)

Die Seren der Patienten 16 und 17 entfalten eine hohe opsonisierende Aktivität: Die Bakterizidie-Raten der Kontroll-PMN mit Patientenserum sind höher als mit Poolserum.

Bei der Patientin 18 kann die Opsonisierungsaktivität des Serums wegen der schon hohen Bakterizidie-Raten in Ansatz M (ohne PMN) nicht mit Sicherheit beurteilt werden, doch deutet die nur geringe Steigerung der Abtötungsrate des Ansatzes G gegenüber Ansatz M ($G-M = 1.7$) und die Berechnung der bereinigten Bakterizidierate (siehe hierzu auf Seite 22) von Ansatz G = -13.9 % auf eine signifikant erniedrigte Serumopsoninfunktion gegenüber den Teststaphylokokken hin.

Die Granulozytenfunktion wurde bei den drei Frühgeborenen Patienten nicht untersucht.

An- satz	PMN	Serum	PBS	Patient 15 1h 2h	Patient 16 1h 2h	Patient 17 1h 2h	Patient 18 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-79.5 -54.0	- -	- -	- -
B	Pat	Pat	-	-74.7 -92.7	- -	- -	- -
F	Kon	Pool	-	-87.2 -84.0	-72.7 -88.1	-72.7 -88.1	-92.0 -81.0
G	Kon	Pat	-	-72.8 -94.7	-89.8 -94.0	-76.8 -94.2	-85.7 -89.5
L	-	Pool	+	- 493.2	+97.4 205.7	+97.4 205.7	- 177.5
M	-	Pat	+	- -80.3	+76.8 673.5	+93.2 490.7	- -87.8
PMN- und Serumfunktionsdefekte				PMN Serum	+++ (+)		
Untersuchungsdatum				05.04.76	Serum -	Serum -	Serum (+)
Name				Med.	Bü.	Hu.	Ma.
Alter, Geschlecht				7 Jahre, f.	15 Tage, m.	3 Tage, m.	(600 Gramm), f.
Kontrollperson				M.	M.	M.	J.
Labor				-	8600 L, 23% Seg E. coli <1 : 10 Klebs. <1 : 10 Proteus <1 : 10 Ps. aer. <1 : 10 Staph. <1 : 10	6800 L,	-
Diagnose, Befund				Morbus Down, atypische Pneumonie	Frühgeburt	Frühgeburt, Rh-Inkompatibilität	Frühgeburt (postmortales Blut)
Therapie				Antibiotika	Moronal [®] , Humanalbumin,	Blutaustausch, Humanalbumin	Antibiotika

Tab. 14 : Granulozyten- und Serumopsoninfunktion eines Patienten mit Morbus Down, sowie die Serumopsoninfunktion von drei Frühgeborenen (s.a. unter Punkt C. 1.1.4 und 1.1.5, S. 37) : Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; tg = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patientenserinum, Kon = Kontrollserum, L = Leukozyten, PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. f. = feminin, m. = maskulin.

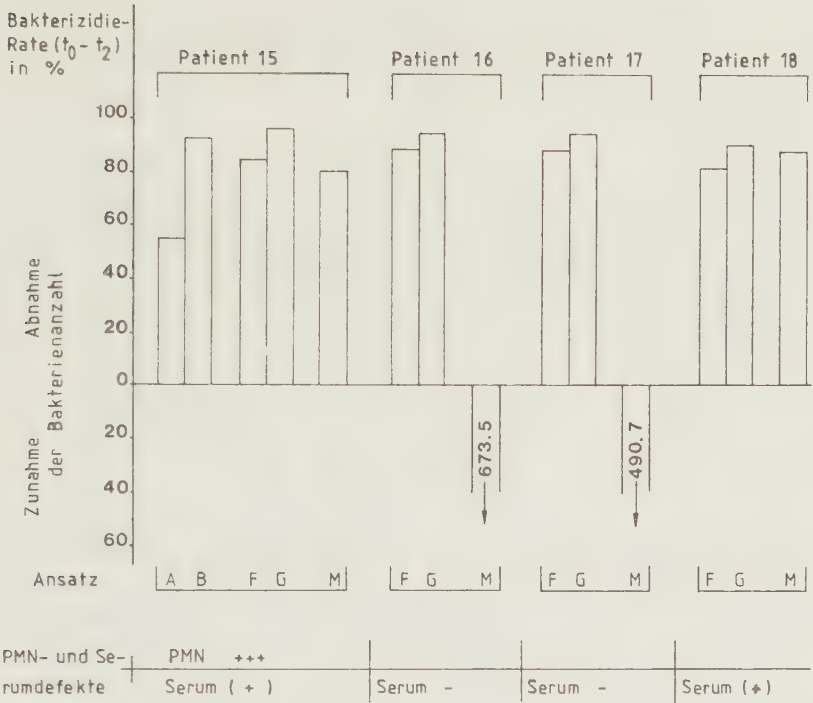


Abb. 9 : Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion einer Patientin mit Morbus Down, sowie die Serumopsoninfunktion von drei Frühgeborenen (s.a. Tab. 14 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.1.4 und C. 1.1.5). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 14. Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

1.2 Patienten mit sekundärer Immundefizienz

1.2.1 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL), 10 Fälle, (s.Tab. 15 und 16, sowie Abb. 10)

10 Patienten des untersuchten Krankengutes haben als Grundkrankheit eine akute lymphatische Leukämie. Bei sechs dieser Patienten wurden die Granulozyten- und Serumopsoninfunktion untersucht (direktes Testverfahren), bei den restlichen vier Patienten wurde die Serumopsoninfunktion alleine getestet (indirektes Testverfahren). Die in den Seren der vier indirekt getesteten Patienten enthaltenen Antibiotika versuchten wir nach oben geschilderter Methode (s.u. Punkt B. 3.3.1 , S. 22) auszuwaschen.

Serumfunktion (s.Tab. 15, Ansatz A verglichen mit Ansatz B und Ansatz F vergl. mit G ; Tab. 16, Ansatz F verglichen mit Ansatz G)

In keinem der 10 untersuchten Fälle war die Opsonisierungspotenz des Serums im Vergleich zu Poolserum in signifikanter Weise vermindert: Bei 9 Patienten funktionierten die Serumopsonine zusammen mit homologen PMN besser als die von Poolserum mit der gleichen Granulozytensuspension (s. Tab. 15 und 16, Ansätze F und G); hierbei muß jedoch auf den Einfluß von Antibiotika im Serum hingewiesen werden, der bei den direkt getesteten Patienten nicht ausgeschaltet wurde und bei zwei Patienten (Pat. 21 und 23) sehr effektiv ist (s.Tab. 15, Ansatz M). Hier ist die Beurteilung der Opsonisierungspotenz der Seren schwierig. Nach den Überlegungen von Seite 22, Punkt B.3.3.2 , kann man für den Ansatz G (Kontroll-PMN mit Patientenserum), 2h Inkubation, bei Patient 21 eine bereinigte Phagozytose-Bakterizidie-Rate von -85%, bei Patient 23 eine solche von -83% errechnen; hiernach kann man auch bei diesen beiden Patienten keinen Opsonierungsdefekt verifizieren, wenn man die Fehlermöglichkeit bei dieser Art Ergebnisverwertung berücksichtigt. Mit dieser Berechnungsmethode läßt sich auch für die Patienten 26 und 28 (s.Tab. 16) zeigen, daß das nach Serumfiltration im Serum verbliebene Antibiotikum keinen Opsonierungsdefekt verdeckt: Für Patient 26, Ansatz G, 2h Inkubationszeit, errechnet sich eine bereinigte Phagozytose-Bakterizidie-Rate von -78.7%, für Patient 28 eine solche von -94.1%. Diese bereinigten Bakterizidie-Raten liegen bei beiden Patienten noch über den Werten der Kontrollansätze (Ansatz F). Das Serum des Patienten 24 zeigt mit Patienten-PMN (Ansatz B) im Vergleich zu Poolserum (Ansatz A) keine Funktionsschwäche.

An- satz	PMN	Serum	PGS	Patient 19 1h 2h	Patient 20 1h 2h	Patient 21 1h 2h	Patient 22 1h 2h	Patient 23 1h 2h	Patient 24 1h 2h			
A	Pat	Pool	-	+80.0 +103.3	+ 8.8 +52.9	+ 8.7 +142.3	-75.0 -70.5	-58.8 -91.3	-90.6 -93.8			
B	Pat	Pat	-	+38.3 +14.9	- 5.9 +50.0	-47.0 -62.6	-68.6 -79.7	-93.9 -96.0	-84.8 -93.9			
F	Kon	Pool	-	-41.0 -68.0	-37.7 -67.3	-81.6 -94.8	-90.7 -92.5	-84.0 -96.8	-96.7 -98.3			
G	Kon	Pat	-	-73.6 -80.5	-60.1 -92.4	-82.0 -97.0	-77.3 -93.8	-83.7 -97.2	-71.4 -92.9			
L	-	Pool	+	- +486.3	- +218.7	- +237.3	- +258.4	- +321.0	- +193.5			
M	-	Pat	+	- +48.0	- +225.3	- -79.8	- +7.6	- -82.1	- +193.9			
PMN- und Serum- funktionsdefekte	PMN	++++ Serum -	PMN	++++ Serum -	PMN	++++ Serum (-)	PMN	+++ Serum -	PMN	+ Serum (-)	PMN	- Serum -
Untersuchungsdatum	12.12.75		15.12.75		16.12.75		30.01.76		15.03.76		09.01.76	
Name	F. Claudia		W. Netascha		Sch. Gabi		B. Anton		G. Helga		Sch. Carola	
Alter, Geschlecht	5 Jahre, f.		2 Jahre, f.		13 Jahre, f.		12 Jahre, m.		13 Jahre, f.		11 Jahre, f.	
Kontrollperson	M.		B.		B.		A.		M.		B.	
Labor	15000 L/7% Seg		2650 L/66% Seg		3400 L/16% Seg		2450 L/46% Seg		5900 L/46% Seg		5960 L/80% Seg	
Diagnose, Befund	ALL, Infektion an der Lippe		ALL, ZNS-Rezi- div,		ALL		ALL, Soor, Ge- wichtsverlust, unklares Fieber		ALL, Fieber,		ALL in Remis- sion,	
Therapie	Deporex,		Methotrexat, bis 14.12. Bactrim		Bluttransf., Ge- porex, Tobira- mycin, Moronal		Deporex, Moro- nal, Intreglo- bin,		Cephalexin, Bluttransfus.		Zytostatika, Bestrahlung,	

Tab. 15: Grenulozyten- und Serumopsoninfunktion von 6 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (s.a. unter Punkt C. 1.2.1, S. 40). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, + s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Gra- nulozyten = PMN, ALL = akute lymphatische Leukämie, f. = feminin, m. = maskulin.

An- satz	PMW	Serum	PBS	Patient 25			Patient 26			Patient 27			Patient 28		
				Ø filtriert	Ser. filtr.	Ø filtriert	Ø filtriert	Ser. filtr.	Ø filtriert	Ø filtriert	Ser. filtr.	Ø filtriert	Ø filtriert	Ser. filtr.	Ø filtriert
				1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F	Kon	Pool	-	-88.0	-94.8	-88.8	-90.8	-87.7	-89.4	-74.8	-75.2	-73.7	-85.7	-81.3	-87.9
G	Kon	Pat	-	-89.3	-96.9	-90.9	-97.9	-84.0	-84.8	-79.6	-84.2	-88.9	-82.7	-90.4	-94.1
L	-	Pool	+	-	354.5	+44.7	+74.5	+59.8	200.3	+ 1.7	+22.2	+90.9	458.4	+90.5	+74.6
M	-	Pat	+	-43.9	-31.8	+15.7	+28.2	-93.0	-96.9	- 7.2	-25.7	+19.3	+54.5	+56.0	+79.3
Serumfunktionsde- fekte				Serum -				Serum -				Serum -			
Untersuchungsdatum				05.05.76				11.05.76				13.05.76			
Name				P. Patricia				G. Ira				H. Rupert			
Alter, Geschlecht				2 Jahre, f.				5 Jahre, f.				12 Jahre, m.			
Kontrollperson				M.				M.				M.			
Labor				338 L				1200 L				2100 L/74% Seg			
Diagnose, Befund				ALL, Pneumocystis cari- nii Pneumonie, starb am 23.05.76				ALL, Sepsis mit gram- negativen Stäbchen				ALL, Pneumocystis cari- nii Pneumonie,			
Therapie				Gernebein, Bactrim, Moralon, Frischblut mit Granulozytenkonzentrat am 05.05.76, Schädelbe- strahlung: 11.03. - 01.04.76 mit 2400 rd				Cephalotin, Gernebein, Moralon, Ben-u-ron,				Cephalotin, Gernebein, Bactrim, Moronal,			

Tab. 16: Serumopsoninfunktion von 4 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie, Untersuchung jeweils mit filtriertem und nicht filtriertem Serum (s. a. unter Punkt C. 1.2.1, S. 40 und Punkt B. 3.3.1, S. 22). Änderung der Bakterienzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der Serumdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s. u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMW bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMW, L = Leukozyten, Seg = segment-kernige neutrophile Granulozyten = PMN, ALL = akute lymphatische Leukämie. f. = feminin, m. = maskulin.

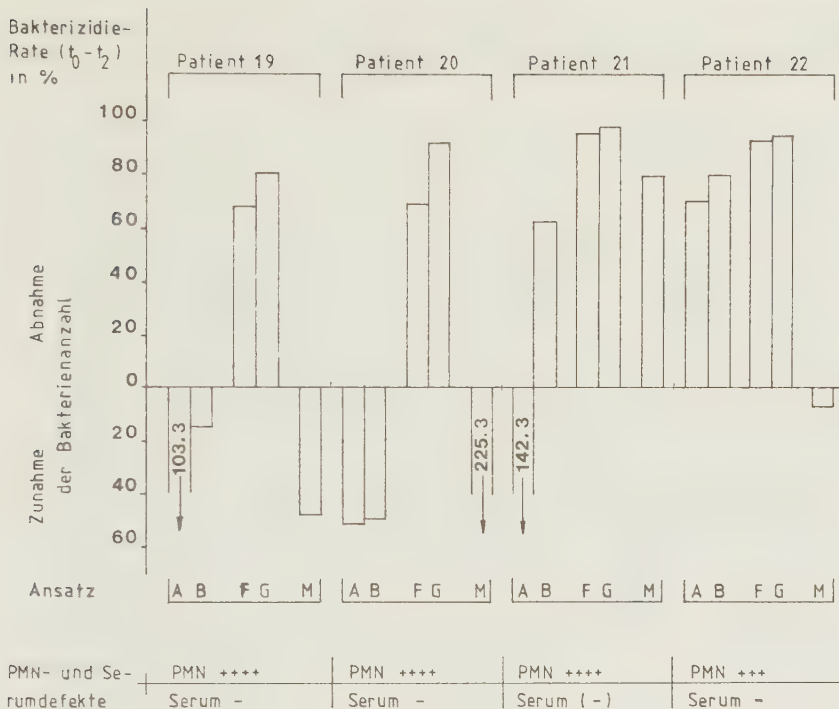


Abb. 10 : Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von 4 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (s.a. Tab. 15 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.2.1, S. 40). Die Buchstaben A, B, F, G und M bezeichnen die Versuchsansätze in Tabelle 15. Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

PMN-Funktion (s.Tab. 15, Ansatz A verglichen mit Ansatz F und Ansatz B verglichen mit Ansatz G)

Bei 5 der 6 direkt getesteten Patienten konnte ein Defekt der Granulozytenfunktion gezeigt werden. Aus Tabelle 15 (Ansätze A, H, verglichen mit F, G) läßt sich erkennen, daß die Patienten 19, 20 und 21 einen gravierenden PMN-Defekt aufweisen: Ihre Segmentkernigen können in Kombination mit Poolserum das Bakterienwachstum nicht verhindern. Bei den Patienten 19 und 20 vermehren sich die Bakterien auch in Ansatz B (Patienten-PMN mit Patientenserum), während sich bei Patient 21 im Ansatz B das im Serum enthaltene Antibiotikum bemerkbar macht. Patient 22 hat ebenfalls einen bedeutsamen Granulozyten-Funktionsdefekt: Seine PMN vermögen mit Poolserum die Bakterien weit weniger gut abzutöten, als die Kontroll-PMN mit Poolserum (1h: $|A-F| = 15.7$, 2h: $|A-F| = 22$). Auch mit eigenem Serum ist die Abtötungsrate der Patienten-PMN niedriger als die der Kontroll-PMN (1h: $|B-G| = 8.7$, 2h: $|B-G| = 14.1$); die etwas höhere Abtötungsrate in Ansatz H, verglichen mit Ansatz A (2h: $|B-A| = 9.2$) ist wahrscheinlich auf den Antibiotikaeinfluß zurückzuführen (s.Tab. 15, Ansatz M). Die Granulozyten des Patienten 23 funktionieren mit Poolserum nach 1h und nach 2h Inkubation schlechter als die Kontroll-PMN mit Poolserum (1h: $|A-F| = 25.2$, 2h: $|A-F| = 5.5$); die Ergebnisse mit Patientenserum sind wegen des Antibiotikagehaltes nicht zu verwerten (s.Tab. 15, Ansatz M). Bei Patient 24 sind die Bakterizidie-Raten seiner PMN mit Poolserum nur wenig niedriger als die der Kontroll-PMN mit Poolserum (1h: $|A-F| = 6.1$, 2h: $|A-F| = 4.5$), die Abtötungsrate der Patienten-PMN mit Patientenserum ist höher als die der Kontroll-PMN mit Patientenserum; dies spricht gegen eine Granulozytenfunktionsstörung.

1.2.2 Ein Patient mit akuter myeloischer Leukämie (AML) und Myeloperoxidase-Mangel sowie dessen Familienangehörige (s.Tab. 17 und 18 und Abb. 11)

Patient 29 (s.Tab. 17 und Abb. 11)

Serumfunktion

Das Patientenserum zeigt bei den ersten beiden Untersuchungen (29a, 29b) mit Kontroll-PMN einen hohen Opsonisierungseffekt (vergleiche Ansatz F mit Ansatz G), wobei bei der zweiten Untersuchung (29b) das im Serum enthaltene Antibiotikum (s. Ansatz M) eine Serumopsonin-Funktionsminderung verdecken könnte. Mit autologen PMN zeigt das Patientenserum bei der ersten Untersuchung (29a) eine im Vergleich zu Poolserum niedrigere Funktionsrate (1h: $|A-B| = 7.4$, 2h: $|A-B| = 10.1$), so daß hier eine Serumopsonin-Funktionseinschränkung anzunehmen ist. Bei der dritten Untersuchung (29c) zeigte sich ein noch stärkerer Opsonisierungsdefekt des Patientensersums: Sowohl die Patienten- als auch die Kontroll-PMN haben trotz des Antibiotikagehalts im Serum des Patienten (s. Ansatz M) mit Patientenserum wesentlich niedrigere Abtötungsraten als mit Poolserum (1h: $|A-B| = 10.0$, $|F-G| = 29.1$; 2h: $|A-B| = 39.5$, $|F-G| = 22.4$).

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten des Patienten zeigen bei allen drei Untersuchungen (29a, 29b, 29c) schwerwiegende Abtötungsdefekte (vergleiche die Ansätze A mit F und B mit G).

Vater 30 (s.Tab. 17 und Abb. 11)

Serumfunktion

Das Serum des Vaters hat mit Kontroll-PMN bei beiden Untersuchungen (30a, 30b) eine hohe opsonisierende Aktivität (vergleiche in Tab. 17 Ansatz F mit G), wenn auch die Abtötungsraten mit Poolserum nach 1h Inkubation höher lagen als mit Patientenserum (30a/1h: $|F-G| = 7.6$, 30b/1h: $|F-G| = 5.8$).

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten des Vaters weisen eine leichtere Abtötungsschwäche auf: Sie zeigen mit Poolserum wie mit Patientenserum niedrigere Bakterizidieraten als die Kontroll-PMN (mit einer Ausnahme: 30b, 1h, Ansatz B und G):

An- satz	PMN Serum	PBS	Patient 29a 1h 2h	Patient 29b 1h 2h	Patient 29c 1h 2h	Vater 30a 1h 2h	Vater30b 1h 2h
A	Pat Pool	-	-44.7 -74.8	- -60.2	-23.7 -55.0	-89.0 -87.0	-79.0 -86.9
B	Pat Pat	-	-37.3 -64.7	-41.5 -82.2	-13.7 -15.5	-73.5 -90.4	-85.0 -88.6
F	Kon Pool	-	-96.6 -99.1	-87.2 -93.2	-87.4 -92.0	-96.6 -99.1	-87.2 -93.2
G	Kon Pat	-	-92.0 -94.7	-90.5 -93.7	-58.3 -69.6	-89.0 -97.3	-81.4 -94.9
L	- Pool	+	- +588.3	- +507.9	- +105.0	- +588.3	- +507.9
M	- Pat	+	- +438.6	- -22.5	- -55.5	- +854.2	- +745.6
PMN- und Serum- funktionsdefekte							
Untersuchungsdatum			PMN Serum +++ +	PMN Serum ++ (-)	PMN Serum +++ +++	PMN Serum + -	PMN Serum + -
09.06.76			06.07.76				
Name							
H. Wölfgang			H. Wölfgang				
Alter, Geschlecht							
14 1/2 Jahre, m.			ca. 50 Jahre				
Kontrollperson							
M.			M.				
Labor							
6700 L/50% Seg 10.06.76: Positive Blutkultur (aerobe und anaerobe Keime)			5600 L/20% Seg	14100 L/78% Seg	-		
Diagnose, Befund							
AML, Myeloperoxidase-Mangel, Soor, Bronchopneumonie, Streptokokkeninfektion, Fieber,			gesund				
Therapie							
Frischblut am 01.06.76, 11.06.76 und 12.06.76, Moronal, Ben-U- ron, Ben-U-ron, Proposonin am 14.05.76, 16.05.76 und 15.06.76			keine				

Tab. 17: Granulozyten- und Serumpsoninfunktion von einem Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML), Myeloperoxidase-Mangel und schweren Infektionen, sowie von dessen Vater (s.a. unter Punkt C. 1.2.2, S. 45). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (+, -) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN. f. = feminin, m. = maskulin.

An- satz	PMN	Serum	PBS	Schwester 31 1h 2h	Großmutter 32 1h 2h	Mutter 33 1h 2h	Tante 34 1h 2h	Tante 35 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-91.4 -88.8	-92.1 -96.1	-92.9 -98.1	-75.7 -93.6	-81.9 -97.0
B	Pat	Pat	-	-86.0 -99.3	-79.1 -86.0	-94.6 -93.7	-81.3 -85.8	-89.9 -94.6
F	Kon	Pool	-	-87.2 -93.2	-87.4 -92.0	-87.2 -93.2	-87.4 -92.0	-87.4 -92.0
G	Kon	Pat	-	-80.0 -92.4	-86.8 -84.1	-71.4 -66.7	-92.3 -94.6	-93.3 -91.7
L	-	Pool	+	- +507.9	- +105.0	- +507.9	- +105.0	- +105.0
M	-	Pat	+	- +402.3	- -27.2	- +803.3	- +147.7	- +795.0
PMN- und Serum- Funktionsdefekte				PMN - Serum -	PMN - Serum +	PMN - Serum +	PMN - Serum -?	PMN - Serum -
Untersuchungsdatum				15.06.76	06.07.76	15.06.76	06.07.76	06.07.76
Name				Wolfgang Schwa- ster	Großmutter mütterlicherseits		Halbschwester des Vaters väterli- cherseits	Schwester des Vaters
Alter				ca. 11 Jahre	ca. 75 Jahre	ca. 45 Jahre	ca. 40 Jahre	ca. 40 Jahre
Kontrollperson				J.	J.	J.	J.	J.
Diagnose, Befund				gesund	gesund	gesund	gesund	gesund

Tab. 18: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von Familienangehörigen des Patienten 29 (AW, Myeloperoxidase-Mangel) (s.a. unter Punkt G. 1.2.2, S. 45 ff.). Änderung der Bakterienzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; t_0 = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum bzw. Patienten-PMN, Kon = Kontroll-PMN, PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten.

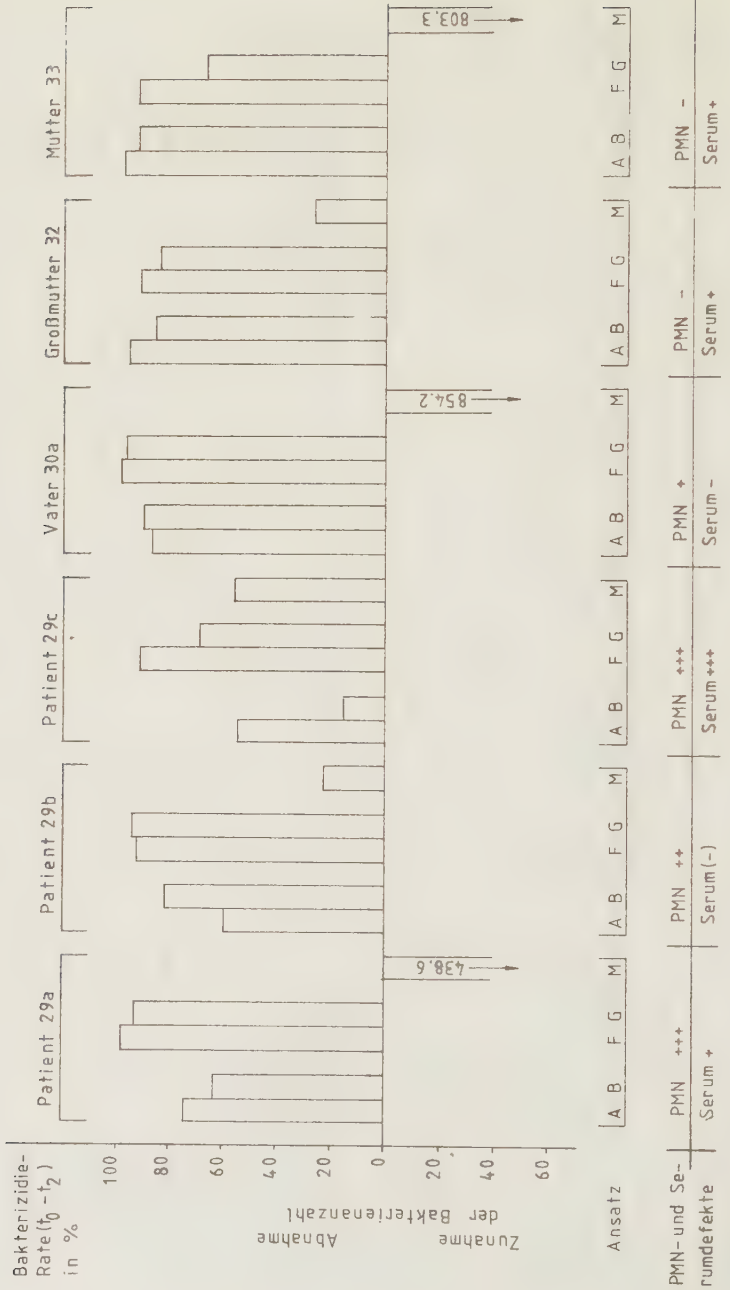


Abb. 11: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion des Patienten 29 (AM, Myeloperoxidase-Mangel) und dessen Familienangehörige (s.a. Tabellen 17 und 18 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.2.2, S. 45). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in den Tabellen 17 und 18. Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

30a/1h: $|A-F| = 7.6$, $|B-G| = 15.5$; 2h: $|A-F| = 12.1$, $|B-G| = 6.9$; 30b/1h: $|A-F| = 8.2$, $|B-G| = 3.6$; 2h: $|A-F| = 6.3$, $|B-G| = 6.3$.

Schwester 31 (s.Tab. 18)

Serumfunktion

Das Serum der Schwester des Patienten hat nach 2h Inkubation mit Kontroll-PMN und autologen Granulozyten eine hohe Funktionsrate (vergleiche die Ansätze A mit B und F mit G in Tab. 18); die im Vergleich zu Poolserum etwas erniedrigte Funktionsrate nach 1h Inkubation ($|A-F| = 4.2$, $|B-G| = 6.0$) läßt daher keinen Schluß auf eine erniedrigte Opsonisierungspotenz zu.

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten der Schwester zeigen mit eigenem Serum insbesondere nach 2h Inkubation eine hohe Bakterizidie-Rate (s. Ansatz B, Tab. 18), ein zellulärer Abtötungsdefekt liegt demnach nicht vor.

Großmutter 32 (s.Tab. 18 und Abb. 11)

Serumfunktion

Mit dem Serum der Großmutter des Patienten erzielen die Kontroll-PMN und auch die autologen PMN schlechtere Abtötungsraten als mit Poolserum (1h: $|A-B| = 13.0$, $|F-G| = 0.6$; 2h: $|A-B| = 10.1$, $|F-G| = 7.9$), die Funktion der Serumopsonine scheint also eingeschränkt zu sein.

Granulozytenfunktion

Die Bakterizidie-Raten der PMN der Großmutter liegen, mit einer Ausnahme (1h, Ansätze B und G), mit Poolserum und mit autologem Serum über denen der Kontroll-PMN (vergleiche die Ansätze A mit F und B mit G in Tab. 18), ein zellulärer Abtötungsdefekt liegt somit nicht vor.

Mutter 33 (s.Tab. 18 und Abb. 11)

Serumfunktion

Das Serum der Mutter zeigt zwar mit autologen PMN eine hohe Opsonisierungspotenz (s. Ansatz B, Tab. 18), doch ist die Abtötungsrate dieser Granulozyten mit Poolserum nach 2h Inkubation noch höher (2h: $|A-B| = 4.4$) und die Kontroll-PMN arbeiten mit dem Serum der Mutter wesentlich schlechter als mit Poolserum (1h: $|F-G| = 15.8$, 2h: $|F-G| = 26.5$), so daß eine Funktionseinschränkung der Serumopsonine nicht auszuschließen ist.

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten der Mutter weisen mit Poolserum und mit Patientenserum höhere Abtötungsraten auf als die Kontroll-PMN (vergleiche die Ansätze A mit F und B mit G), ein Defekt in den Phagozyten liegt damit nicht vor.

Tante 34 und Tante 35 (s.Tab. 18)

Serumfunktion

Die Kontroll-PMN weisen mit den Euren beider Versuchspersonen (s. Ansatz G, Tab. 18) nach 1h und nach 2h Inkubation hohe Abtötungsraten auf. Eine Opsonisierungsschwäche ist demnach bei keiner der Tanten nachweisbar, obwohl das Serum der Tante 34 mit autologen PMN (Ansatz B in Tab. 18) nach 2h Inkubation eine im Vergleich zu Poolserum (Ansatz A) erniedrigte Funktionsrate zeigt ($|A-B| = 7.8$).

Granulozytenfunktion

Die PMN beider Tanten haben mit Poolserum hohe Bakterizidie-Raten, eine Störung der intrazellulären Abtötung liegt nicht vor.

Familiäre Abhängigkeit der PMN- und Serumopsoninfunktionsstörung bei Patient 29 (s.a. Abb. 12)

Die Granulozyten- und Serumopsoninfunktionsstörungen scheinen durch eine hereditäre Belastung zumindest mitbedingt zu sein:

Als Ursache der PMN-Funktionsschwäche bei Patient 29 kommt neben der Grunderkrankung (AML) und dem Myeloperoxidase-Mangel eine vom Vater ererbte PMN-Funktionsminderung in Frage, dessen PMN weisen ebenfalls eine signifikant erniedrigte Abtötungsrate auf.

In der Serumopsoninfunktion scheint der Patient 29 von Seiten seiner Mutter und Großmutter mütterlicherseits erblich belastet zu sein. Die Störung der Serumopsoninfunktion könnte x-chromosomal-rezessiv vererbt sein, da weder die Schwester des Patienten, noch der Vater eine derartige Störung aufweisen.

Komplementanalyse bei Patient 29 und Familienangehörigen

In keinem Fall ergab sich ein Komplementmangel oder eine Funktionsstörung. Bei Patient 29 fällt ein hoher CH50-Wert, sowie extrem hohe Werte für C1-Inaktivator, C4 und C3 auf.

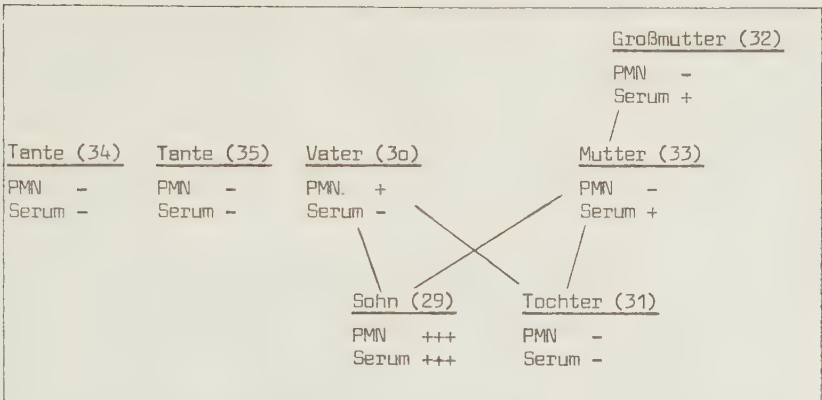


Abb. 12: Familiäre Granulozyten- und Serumopsoninfunktionsstörung beim Patienten 29 (AML, Myeloperoxidase-Mangel), schematische Darstellung. Siehe auch im Text, Seite 50 .

	CH50	C1 x10 ¹³) ⁺	C2 x10 ¹¹) ⁺	C4 x10 ¹³) ⁺	C1-In- aktivator mg%	C4 mg%	C3c mg%	C3-Ak- tivator mg%
Patient 29	56.98	1.64	5.57	2.16	81.0	85.5	236.0	45.8
Vater 30	32.56	1.23	3.79	1.27	44.0	38.6	84.0	16.0
Mutter 33	33.65	1.45	3.70	0.93	38.6	35.6	79.0	20.2
Schwester 31	33.13	1.11	3.77	1.02	33.4	29.8	84.0	20.2

Tab. 19: Quantitative Bestimmung von Komplementkomponenten in den Seren von Patient 29, sowie dessen Vater, Mutter und Schwester.)⁺ Hämolysisch effektive Moleküle pro ml . Durchführung der Bestimmung an der Abteilung für theoretische Medizin, Lehrstuhl für medizinische Mikrobiologie der Ruhr-Universität Bochum, Prof. Opferkuch.

1.2.3 Patienten mit thermischen Verletzungen (siehe auch Tabelle 2o und Abbildung 13)

Patienten mit 5o% Verbrühungen

Serumopsoninfunktion

Das Serum der Patientin 36 zeigt bei allen vier Untersuchungen (36a, 36b, 36c, 36d) mit Kontroll-PMN wie auch mit Patienten-PMN eine höhere Opsonisierungspotenz als Poolserum (vergleiche die Ansätze F mit G und A mit B, Tab. 2o) mit einer Ausnahme: Versuch 36b, 1h Inkubation. Es muß allerdings erwähnt werden, daß die Patientin schon vor der ersten Untersuchung mit Beriglobin und nach der ersten Untersuchung mit Proopsonin behandelt wurde (s.a. Tabelle 2o).

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten der Patientin zeigen bei allen vier Untersuchungen gegenüber den Kontroll-PMN erniedrigte Bakterizidie-Raten (vergleiche in Tabelle 2o die Ansätze A mit F und B mit G).

Patientin mit 3o% Verbrennungen

Serumopsoninfunktion

Beim Serum der Patientin 37 wurde versucht, mittels Amicon PM-1o Filter den sehr hohen Antibiotikaspiegel zu reduzieren (s.a. unter Punkt B. 3.3.1, S. 22), Poolserum wurde ebenso behandelt. Die Kontroll-PMN weisen mit Patientenserum (trotz des noch verbliebenen Antibiotikarestes im Serum, s. in Tab. 2o, Ansatz M) eine niedrigere Abtötungsrate auf als mit Poolserum (1h: $|F-G| = 15.3$, 2h: $|F-G| = 13.0$); dies spricht für eine Störung der Opsonisierungsfunktion des Serums.

Die Granulozyten dieser Patientin wurden nicht untersucht.

An- satz	PMN	Serum	PBS	Patient 36a 1h	2h	Patient 36b 1h	2h	Patient 36c 1h	2h	Patient 36d 1h	2h	Patient 37 1h	2h	
A	Pat	Pool	-	-48.3	-78.2	-83.9	-32.2	-40.6	-84.6	-52.8	-64.3	-	-	
B	Pat	Pat	-	-77.5	-80.4	-76.5	-67.8	-62.5	-86.8	-59.8	-77.6	-	-	
F	Kon	Pool	-	-94.0	-94.7	-88.2	-94.7	-92.4	-96.2	-87.2	-84.0	-73.2	-80.6	
G	Kon	Pat	-	-94.8	-95.2	-91.5	-95.3	-97.9	-98.6	-97.3	-96.4	-57.9	-67.6	
L	-	Pool	+	-	+380.0	-	+277.0	-	+412.8	-	+493.2	-9.6	-24.8	
M	-	Pat	+	-	-3.9	-	+151.5	-	+227.7	-	+263.3	-67.0	-70.3	
PMN- und Serum- funktionsdefekte	PMN	++	Serum	(-)	PMN	+++	Serum	-	PMN	++	Serum	++	Serum	(++)
Untersuchungsdatum	19.03.76			23.03.76			30.03.76			05.04.76			24.05.76	
Name	Sch. Maria													
Alter, Geschlecht	3 Jahre, f.													
Kontrollperson	M.			M.			M.			M.				
Labor	14300 L/12% Seg Venenkatheterspitze und Wundabstrich: Nicht hämoly- sierende Staphylokokken; Blutkultur: hämolyisierende Staphylokokken.			13600 L/37% Seg			18100 L/58% Seg			14400 L/58% Seg IgG 1480 mg% IgA 89 mg% IgM 76 mg%				
Diagnose, Befund	50% Verdrünnungen													
Therapie	Ceporex, 17.3.: Beriglobin;			Ceporex, Moronal, Proopsonin am 19.3., 26.3., 9.4.,			Ceporex, Moronal, Frischblut: 4.4.,			Frischblut, Cephalo- tin, Tobramycin, Pen- icillin,				

Tab. 20: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von einer Patientin mit 50% Verdrünnungen und Serumopsoninfunktion von einer Patientin mit 30% Verdrünnungen (s.8. unter Punkt C. 1.2.3, S. 52). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patienten-serum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN, f. = feminin.

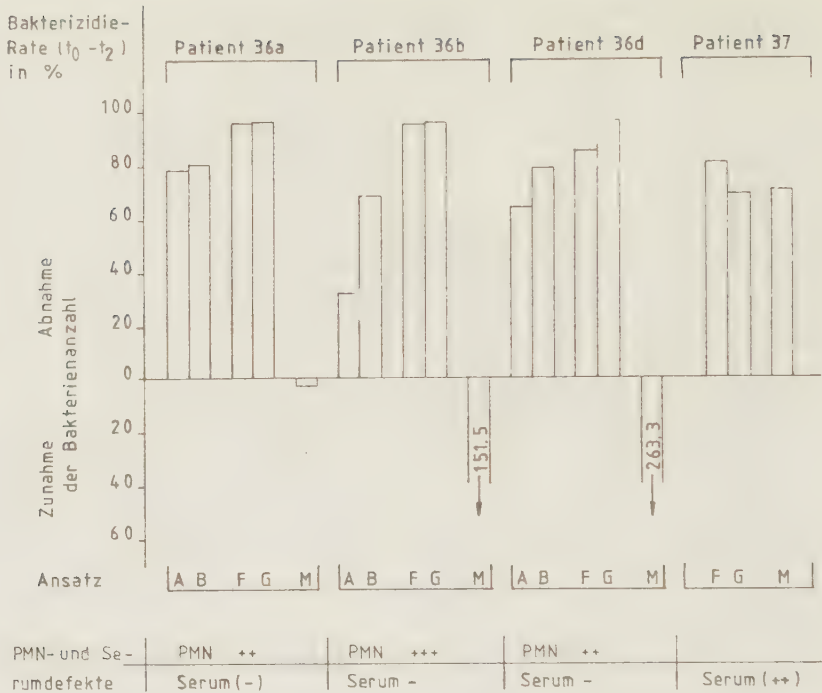


Abb. 13: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion einer Patientin mit 50% Verbrühungen und der Serumopsoninfunktion von einer Patientin mit 30% Verbrennungen (s.a. Tabelle 20 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.2.3, S. 52). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in der Tabelle 20. Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

1.2.4 Zwei splenektomierte Patienten (siehe Tabelle 21 und Abbildung 14)

Serumopsoninfunktion

Das Serum des Patienten 38 hat bei der ersten (38a) und bei der zweiten (38b) Untersuchung keine Einschränkung seiner opsonisierenden Aktivität gezeigt: Die Kontroll-PMN wie auch die Patienten-PMN weisen mit Patientenserum eine höhere Abtötungsrate auf als mit Poolserum (vergleiche in Tab. 21 die Ansätze A mit B und F mit G). Bei der ersten Untersuchung stört allerdings das im Serum enthaltene Antibiotikum: Nach Punkt B. 3.3.2, S.22 ergibt sich für Ansatz G eine bereinigte Phagozytose-Bakterizidie-Rate von -98.3% statt -99.4%, für Ansatz B eine solche von -78.5% statt -92.3%. Die Ergebnisse sprechen somit gegen eine Serumopsoninfunktionsstörung.

Die Serumopsonine des Patienten 39 zeigen bei der ersten Untersuchung eine eindeutige Funktionsminderung: Kontroll- und Patienten-PMN haben (mit einer Ausnahme: 1h, Ansätze A und B) mit Poolserum höhere Abtötungsraten als mit Patientenserum (1h: $|F-G| = 13.0$; 2h: $|A-B| = 14.9$, $|F-G| = 10.4$). Bei der zweiten Untersuchung ist die Serumopsoninfunktion dieses Patienten wegen des sehr hohen Antibiotikaspiegels im Serum (s. in Tab. 21, Ansatz M) nicht zu beurteilen.

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten beider Patienten sind in ihrer Abtötungsfunktion eingeschränkt:

13 Tage nach Milzexstirpation zeigen die Granulozyten des Patienten 38 (erste Untersuchung) eine erniedrigte Bakterizidie-Rate (38a/1h: $|A-F| = 15.6$, $|B-G| = 6.9$; 2h: $|A-F| = 11.3$, $|B-G| = 7.1$). Sieben Monate später (Versuch 38b) hat sich die Granulozytenfunktion weiter verschlechtert (38b/1h: $|A-F| = 45.2$, $|B-G| = 18.5$; 2h: $|A-F| = 50.6$, $|B-G| = 24.2$).

Die Granulozyten des Patienten 39 haben bei der ersten Untersuchung mit Poolserum und mit Patientenserum, bei der zweiten Untersuchung mit Poolserum im Vergleich zu den Kontroll-PMN stark erniedrigte Bakterizidie-Raten (39a/ 1h: $|A-F| = 58.8$, $|B-G| = 42.8$; 2h: $|A-F| = 32.0$, $|B-G| = 36.5$; 39b/ 1h: $|A-F| = 42.1$, 2h: $|A-F| = 44.1$). - Bei der zweiten Untersuchung des Patienten 39 kann die Granulozytenfunktion des Patienten mit autologem Serum wegen des hohen Antibiotikaspiegels (s. Ansatz M in Tab. 21) in diesem Serum nicht beurteilt werden.

1.2.5 Patientin mit Urämie und Nephrektomie (siehe auch Tabelle 21 und Abbildung 14)

Serumopsoninfunktion

Der sehr hohe Antibiotikaspiegel im Serum der Patientin 40 (s. Ansatz M in Tabelle 21) läßt keine Beurteilung der Serumopsoninfunktion zu.

Granulozytenfunktion

Bei der Patientin (40) ist eine massive Granulozytenfunktionsstörung festzustellen (1h: $|A-F| = 61.6$, $|B-G| = 34.3$; 2h: $|A-F| = 27.1$, $|B-G| = 22.8$).

1.2.6 Patient mit Diabetes mellitus (siehe auch Tabelle 21 und Abbildung 14)

Serumopsoninfunktion

Das Serum des Patienten 41 zeigt mit Patienten-PMN und mit Kontroll-PMN gegenüber Poolserum nach 2h Inkubation eine nur wenig erniedrigte Opsonisierungspotenz. Nach 1h Inkubation zeigen die Patienten-PMN mit autologem Serum sogar eine höhere Abtötungsrate als mit Poolserum, lediglich die Kontroll-PMN weisen nach 1h Inkubation mit Poolserum eine wesentlich höhere Bakterizidie-Rate auf als mit Patientenserum (vergleiche in Tabelle 21 die Ansätze A mit B und F mit G). Eine signifikante Serumopsoninfunktionsstörung läßt sich aus diesen Ergebnissen somit nicht ableiten.

Granulozytenfunktion

Der Patient 41 hat eine leichtere, aber doch signifikante Granulozytenfunktionsschwäche (1h: $|A-F| = 15.4$, $|B-G| = 2.8$; 2h: $|A-F| = 10.2$, $|B-G| = 8.1$).

An-satz	PMN	Serum	PBS	Patient 38a 1h 2h	Patient 38b 1h 2h	Patient 39a 1h 2h	Patient 39b 1h 2h	Patient 4a 1h 2h	Patient 41 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-73.8 -85.0	+13.9 -23.5	-33.8 -59.8	-40.1 -46.7	-28.2 -68.5	-72.6 -84.6
B	Pat	Pat	-	-88.7 -92.3	-41.1 -71.5	-36.8 -44.9	-96.0 -98.0	-57.8 -73.9	-76.2 -83.1
F	Kon	Pool	-	-89.4 -96.3	-31.3 -74.1	-92.6 -91.8	-82.2 -90.8	-90.0 -95.6	-88.0 -94.8
G	Kon	Pat	-	-95.6 -99.4	-59.6 -95.7	-79.6 -81.4	-97.7 -99.7	-92.1 -96.7	-79.0 -91.2
L	-	Pool	+	-	+479.4	-	102.0 +304.0	-	-
M	-	Pat	+	-	-64.1	-	+233.3 -98.0 -100.0	-	-94.2
PMN- und Serum-funktionsdefekte				PMN ++ Serum (-)	PMN +++ Serum -	PMN +++ Serum ++	PMN +++ Serum (+++)	PMN +++ Serum (-)	PMN + Serum -
Untersuchungsdatum				12.04.76	09.11.76	19.08.76	24.08.76	06.10.76	18.05.76
Name				M. Marcus		G. Gutseppe		B. Angelika	S. Martin
Alter, Geschlecht				1 Jahr, m.	1 1/2 Jahre	13 3/4 Jahre, m.		13 Jahre, f.	2 Jahre
Kontrollperson				M.	J.	M.	M.	J.	M.
Labor				62000 L, β -1C/1A 104 mg%, IgG 660 mg%, IgA 117 mg%, IgM 260 mg%, Ak-titer: E. coli 1:80, Klob. 1:20 Prot. 1:10, Ps. aer. 1:10,	28600 L/70% Seg			25900 L 89% Seg	12300 L/30% Seg IgG 800 mg%, IgA 90 mg%, IgM 332 mg%,
Diagnose, Befund				Hämolytische Anämie, Hepatosplenomegalie, Splenektomie 30.03.76,		M. Hodgkin, Splenektomie, Pneumokokkensepsis,		Urämie, Nephrektomie,	Diabetes mellitus, V.a. immunolog. Erkrank.
Therapie				Penicillin, Cephalotin, Imurek, Ben-u-ron,		Vibravens, Mo-ronal, Heparin, ironal, heparin, povenin, Moron, ironal,		Amikacin, Mo-ronal,	Insulin

Tab. 21: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von zwei splenektomierten Patienten, einer Patientin mit Urämie und einem Patienten mit Diabetes mellitus (s.a. unter C. 1.2.4, C. 1.2.5 und C. 1.2.6, S. 55 ff). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsonineffekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. Punkt B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN, f. = Fe-minin, m. = mæskulin, Ak = Antikörper, Ps. aer. = Pseudomonas aeruginosa, Prot. = Proteus mirabilis, Klob. = Klebsiella pneumoniae, E. coli = Escherichia coli.

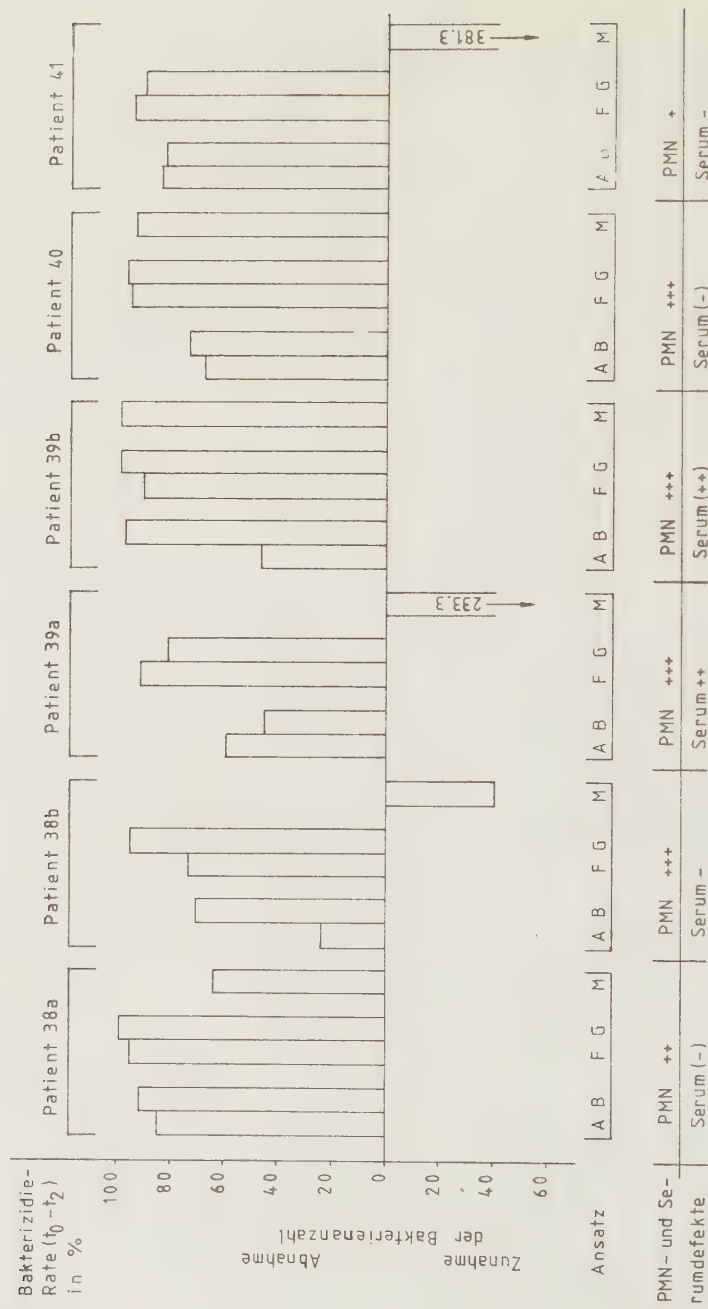


Abb. 14: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von zwei splenektomierten Patienten (38 und 39), einer Patientin mit Urämie (40) und einem Patienten mit Diabetes mellitus (41) (s.a. Tab. 21 und Fallbeschreibung unter C. 1.2.4, C.1.2.5 und C. 1.2.6, S. 55 ff). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 21. Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2., S. 21.

1.3 Patienten ohne diagnostizierte Immundefizienz

1.3.1 Patienten mit rezidivierenden Staphylokokken-Hautabszessen, fünf Fälle (s. Tab. 22 und Abb. 15)

Serumfunktion

Das Serum des Patienten 42 zeigt mit Kontroll-PMN und mit autologen Granulozyten gemessen an den Ansätzen mit Poolserum eine hohe Opsonisierungspotenz (vergleiche in Tab. 22 die Ansätze A mit B und F mit G).

Auch das Serum des Patienten 43 hat mit Kontroll-PMN eine hohe Funktionsrate (vergl. in Tab. 22 die Ansätze F mit G).

Das Serum des Patienten 44 weist mit Kontroll-PMN nach 1h und nach 2h Inkubation eine schlechtere Opsonisierungsfunktion auf als Poolserum (1h: $|F-G| = 20.4$, 2h: $|F-G| = 7.9$). Mit autologen PMN zeigt dieses Serum jedoch nach 1h und nach 2h Inkubation eine höhere Opsonisierungspotenz als Poolserum (1h: $|A-B| = 12.5$, 2h: $|A-B| = 1.0$) und die Abtötungsraten der Patienten-PMN mit autologem Serum sind fast so groß wie die der Kontroll-PMN mit Poolserum (vergl. in Tab. 22 die Ansätze B mit F). Somit läßt sich hier kein für den Patienten relevanter Opsonierungsdefekt verifizieren.

Im Serum des Patienten 45 befindet sich ein hoher Antibiotikaspiegel (Tab. 22, Ansatz M). Die erniedrigte Abtötungsrate in Ansatz B, 2h Inkubation und die Berechnung der bereinigten Bakterizidierate (s.S. 22) für Ansatz G, 2h Inkubation mit $G = -19.3\%$ sprechen für eine erniedrigte Serumopsoninaktivität.

Das Serum des Patienten 46 hat mit Kontroll-PMN im Vergleich zu Poolserum eine leicht verminderte Opsonisierungsfunktion (1h: $|F-G| = 6.8$, 2h: $|F-G| = 5.9$); mit autologen Granulozyten zeigt das Patientenserum im Vergleich zu Poolserum zwar nach 1h Inkubation eine höhere Opsonisierungspotenz (1h: $|A-B| = 13.5!$), jedoch nach 2h Inkubation eine wesentlich schlechtere Funktion als Poolserum (2h: $|A-B| = 18.2$). Bei diesem Patienten ist deshalb eine Serumopsoninfunktionsschwäche anzunehmen.

Granulozytenfunktion

Die Bakterizidie-Raten der Granulozyten aller vier direkt getesteten Patienten sind mit Poolserum nach 1h Inkubation deutlich unter denen der Kontroll-PMN (42/ $|A-F| = 6.0$; 44/ $|A-F| = 17.9$; 45/ $|A-F| = 17.4$; 46/ $|A-F| = 13.2$). Doch nach 2h Inkubation zeigen die Granulozyten keines Patienten mit Poolserum eine bedeutsame Funktionsminderung: Die Bakterizidie-Raten

An- satz	PMN Serum	PBS	Patient 42 1h 2h	Patient 43 1h 2h	Patient 44 1h 2h	Patient 45 1h 2h	Patient 46 1h 2h
A	Pat Pool	-	-87.7 -93.5	- -	-77.7 -91.7	-75.0 -92.7	-78.3 -91.1
B	Pat Pat	-	-88.5 -94.2	- -	-90.2 -92.7	-89.1 -69.3	-91.8 -72.9
F	Kon Pool	-	-93.7 -94.9	-72.7 -88.1	-95.6 -94.3	-92.4 -96.2	-91.5 -95.7
G	Kon Pat	-	-91.2 -93.7	-90.3 -92.8	-75.2 -86.4	-89.3 -95.4	-84.7 -89.8
L	- Pool	+	- +259.3	+97.4 +205.7	- +391.8	- +412.8	- +442.0
M	- Pat	+	- +244.8	+61.8 +614.3	- +322.8	- -94.3	- +528.0
PMN- und Serum- funktionsdefekte	PMN - Serum -			Serum -	PMN - Serum -	PMN - Serum (+)	PMN - Serum +
Untersuchungsdatum	21.01.76			14.06.76	19.03.76	30.03.76	07.04.76
Name	L. Hans-Georg			L. Björn	F. Marco	G. Erich	H. Alexander
Alter, Geschlecht	9 Jahre, m.			9 Monate, m.	2 1/3 Jahre, m.	12 1/4 Jahre, m.	8 1/2 Jahre, m.
Kontrollperson	M.			M.	M.	M.	M.
Labor	8050 L/4% Seg, Ak-Titer normal, IgG 1090 mg% IgA 160 mg% IgM 102 mg%			11800 L/16% Seg	-	4900 L/53% Seg, Ak-Titer ernied- rigt, IgG 1480 mg% IgA 219 mg%, IgM 128 mg%,	7000 L/67% Seg, Ak- Titer stark ernied- rigt, IgG 1480 mg% IgA 219 mg%, IgM 128 mg%,
Diagnose, Befund	rez. eitrige Haut- abszesse, Sinusi- tis maxillaris,			rez. Staphylokok- kenhauteabszesse,	rez. Furunkulose, ß-Thallessämie,	rez. generalisier- te Abszessbildung, Adipositas,	Staph. lokoken- te Abszessbildung, Hauteabszesse,
Therapie	-			Refobacin-Creme	-	Antibiotika	-

Tab. 22: Granulozytenfunktion von 4 Patienten und Serumopsoninfunktion von 5 Patienten mit Staphylokokken-Haut-
abszessen (s.a. Fallbeschreibung unter C. 1.3.1, S. 59). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme,
+ % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Be-
zeichnung (-, +) s.u. B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-
PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN, f. = feminin, m. = maskulin, AK-Titer =
Antikörper-Titer: Bestimmt wurden hierbei Immunglobuline gegen *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, Kie-
b-*siella pneumoniae*, *Escherichia coli* und *Staphylokokkus aureus*.

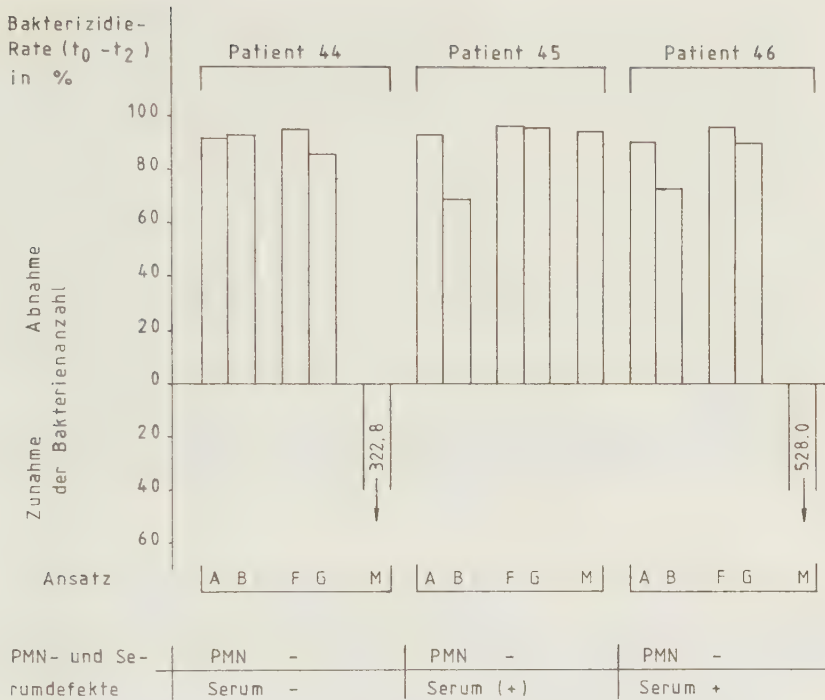


Abb. 15: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von 3 Patienten mit rezidivierenden Staphylokokken-Hautabszessen (S.a. Tab. 22 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.3.1, S. 59). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 22. Einteilung der PMN- und Serumopsonindefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

liegen alle über 90% und die Kontroll-PMN haben mit Poolserum nur geringfügig höhere Abtötungsraten (vergleiche in Tab. 22 die Ansätze A mit F). - Die Granulozyten der Patienten 42 und 44 haben auch mit autologen Seren nach 1h und nach 2h Inkubation hohe Funktionsraten (vergleiche in Tab. 22 die Ansätze B mit F und G). Die PMN des Patienten 46 weisen mit autologem Serum nach 1h Inkubation eine höhere Funktionsrate auf als die Kontroll-PMN (vergleiche in Tab. 22 die Ansätze B mit F und G), deshalb läßt sich aus der erniedrigten Abtötungsrate nach 2h Inkubation (2h:|B-G| = 16.9) nicht auf eine Störung der intrazellulären Abtötung schließen. Die Granulozytenfunktion des Patienten 45 mit autologem Serum ist wegen des im Serum enthaltenen Antibiotikums (s. Tab. 22, Ansatz M) nicht zu beurteilen.

Somit läßt sich aus diesen Ergebnissen bei keinem der Patienten eine bedeutsame Erniedrigung der Phagozytenfunktionsrate verifizieren.

1.3.2 Neun Patienten mit bakterieller Sepsis (s.Tab. 23 - 5 Sepsisfälle, Tab. 11 - 1 Sepsisfall, Tab. 16 - 2 Sepsisfälle, Tab. 21 - 1 Sepsisfall; s.a. Abb. 5, 14 und 16)

Serumfunktion

Bei Patient 47 (Tab. 23) hat das verwendete Poolserum offenbar seine opsonisierende Aktivität teilweise eingebüßt (s.Tab. 23, Ansatz F) und kann daher nicht mehr als Vergleichsserum verwendet werden. Die Bakterizidie-Rate der Kontroll-PMN mit Patientenserum (Tab. 23, Ansatz G) liegt mit 86.8% relativ niedrig, das Serum könnte somit eine leichte Funktionsstörung aufweisen, was jedoch letztlich nicht bewiesen werden kann.

Die Seren der Patienten 49 und 51 haben eine hohe opsonisierende Potenz, eine Serumopsoninfunktionsstörung liegt nicht vor (vergleiche in Tab. 23 die Ansätze F mit G).

Bei den Patienten 48 und 50 macht sich der antimikrobielle Einfluß der Chemotherapie im Serum bemerkbar (s.Tab. 23, Ansatz M); auch bei ihnen kann man keine Opsonisierungsstörung erkennen, da bei beiden die Abtötungsraten nach Zugabe von Kontroll-PMN zu den Seren noch gesteigert werden

konnten (vergleiche in Tab. 23 die Ansätze G und M).

Bei Patient 48 (Tab. 23) ergibt sich (nach Punkt B. 3.3.2, S. 22) für Ansatz G eine bereinigte Bakterizidie-Rate von -79.3%; dies bedeutet, gemessen am Ergebnis aus Kontroll-PMN mit Poolserum (Tab. 23, Ansatz F), keine sehr große Erniedrigung, wenn man noch die mögliche Antibiotika-Adsorption an Zellstrukturen und die damit verbundene Unwirksamkeit berücksichtigt.

Auch bei den Patienten aus Tabelle 16 (Patient 26 und Patient 28) und Tabelle 11 (Patient 1a) sind keine Störungen der Serumopsoninfunktion nachweisbar (s. Fallbeschreibungen unter C.1.1.1, S. 27 und C.1.2.1, S. 40 ff).

Bei Patient 39 (Tab. 21) wurde eine signifikante Minderung der Serumopsoninaktivität festgestellt, die auch durch die Splenektomie oder durch die Grunderkrankung des Patienten (Morbus Hodgkin) mitbedingt sein könnte (siehe Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.2.4, S. 55).

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten des Patienten 47 (Tab. 23) zeigen mit autologem Serum nach 1h Inkubation eine wesentlich niedrigere Bakterizidie-Rate als die Kontroll-PMN, nach 2h ist dieser Unterschied nicht mehr so gravierend (1h: $|B-G| = 30.3$, 2h: $|B-G| = 6.6$); auch mit dem in seiner Opsonisierungspotenz geschwächten Poolserum haben die Patienten-PMN eine schlechtere Abtötungsrate als die Kontroll-PMN (vergleiche in Tab. 23 die Ansätze A mit F). Aufgrund dieser Ergebnisse muß bei Patient 47 eine Granulozytenfunktionsschwäche angenommen werden.

Bei Patient 1 (Tab. 11) zeigt sich eine Granulozytenfunktionsminderung, die jedoch möglicherweise von der Grunderkrankung (Wiskott-Aldrich-Syndrom) mit verursacht wird (siehe Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.1.1, S. 27).

Auch die Granulozyten des Patienten 39 (Tab. 21) weisen eine Funktionsminderung auf (siehe Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.2.4, S. 55), wobei bei diesem Patienten ebenfalls die Grunderkrankungen (M. Hodgkin, Splenektomie) in die Beurteilung der Ergebnisse mit einbezogen werden müssen.

Kon- satz	PMN Serum	PBS	Patient 47		Patient 48		Patient 49		Patient 50		Patient 51	
			1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
A	Pat Pool	-	+202.9	- 6.0	-	-	-	-	-	-	-	-
B	Pat Pat	-	-43.4	-80.2	-	-	-	-	-	-	-	-
F	Kon Pool	-	+76.1	-42.5	-93.1	-65.9	-93.5	-96.9	-91.1	-92.7	-88.3	-96.3
G	Kon Pat	-	-73.7	-86.6	-94.6	-95.8	-94.6	-98.9	-94.8	-96.4	-86.5	-96.2
L	- Pool	+	-	-	-	+353.8	-	+117.3	-	+243.2	-	+498.3
M	- Pat	+	-	+75.8	-	-79.7	-	+136.1	-	-95.6	-	+445.5
PMN- und Serum- funktionsdefekte			PMN Serum	+	Serum (-)		Serum -		Serum (-)		Serum -	
Untersuchungsdatum			. 10.74		26.10.76		20.10.76		14.10.76		10.10.76	
Name			F. Annenarie		Sch.		H.		H. Isabella		J.	
Alter, Geschlecht			13 Jahre, f.		10 Monate, m.		1 Monat, f.		1 Monat, f.		1 Monat, m.	
Kontrollperson			A.		J.		Mo.		J.		J.	
Labor			-		14300 L/61% Seg		-		-		-	
Diagnose, Befund			Endokarditis len- ta, Lentasepsis,		Sepsis mit Serra- tia marcescens,		Sepsis (Pseudomo- nas, Klebsiellen)		Sepsis (E. coli, Salmonellen, Klebsiellen)		Sepsis	
Therapie			-		Gerneboin, Para- xin, Blutaustausch und Gammavenin am 24.10.76		Collistin, Cephe- lotin, Moronal,		Antibiotika		-	

Tab. 23: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von einem Patienten und Serumopsoninfunktion von weiteren vier Patienten mit bakterieller Sepsis (s.o. Fallbeschreibung unter C. 1.3.2, S. 62 ff). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMN bzw. Patienten-serum, Kon = Kontroll-PMN, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMN, f. = feminin, m. = maskulin.

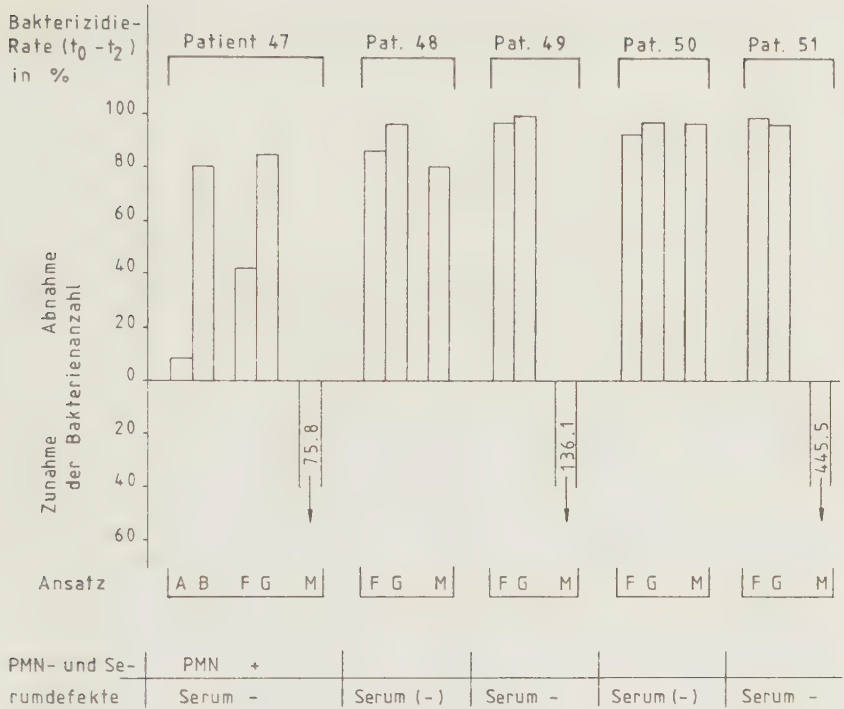


Abb. 16: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von 1 Patienten und der Serumopsoninfunktion von weiteren vier Patienten mit bakterieller Sepsis (s.a. Tab. 23 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.3.2, S. 62 ff). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 23. Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

1.3.3 Neun Patienten mit verschiedenen Infektionen (s.a. Tab. 24 und Tab. 25, sowie Abb. 17 und 18)

Serumopsoninfunktion

Bei sechs der neun Patienten konnte keine Opsonisierungsschwäche des Serums nachgewiesen werden:

Die Seren der Patienten 52 und 58 zeigen bei 1h und 2h Inkubation mit Kontroll-PMN und autologen Granulozyten eine größere oder nur geringfügig niedrigere Opsonisierungspotenz als Poolserum (vergleiche in Tab. 24 und 25 die Ansätze A mit B und F mit G).

Auch die Serumopsonine der Patienten 53, 54 und 59 haben eine hohe Funktionsrate (vergleiche in Tab. 24 und 25 die Ansätze A mit B und F mit G); aus den im Vergleich zu den Kontrollansätzen erniedrigten Abtötungsraten bei Patient 53, Ansatz B, 1h Inkubation und Ansatz G, 2h Inkubation (1h: $|A-B| = 10.2$, 2h: $|F-G| = 3.9$), bei Patient 54, Ansatz G, 1h Inkubation (1h: $|F-G| = 11.3$) und bei Patient 59, Ansatz B, 1h Inkubation und Ansatz G, 1h Inkubation (1h: $|A-B| = 6.3$, $|F-G| = 0.3$) läßt sich noch keine Opsonisierungsstörung ableiten.

Bei Patient 55 läßt sich die Serumopsoninaktivität wegen des im Serum vorhandenen hohen Antibiotikaspiegels (s.Tab. 24, Ansatz M) nicht sicher beurteilen.

Die Serumopsonine der Patienten 56 und 57 haben eine signifikante Funktionseinschränkung: Patienten-PMN wie Kontroll-PMN haben mit den jeweiligen Patientenserum niedrigeren Abtötungsraten als mit Poolserum, eine Ausnahme macht bei Patient 57 Ansatz B, 1h Inkubation (s.Tab. 25) (Patient 56/ 1h: $|A-B| = 10.6$, $|F-G| = 13.9$; 2h: $|A-B| = 4.4$, $|F-G| = 5.7$; Patient 57/ 1h: $|A-B| = 5.2$!, $|F-G| = 2.6$; 2h: $|A-B| = 7.7$, $|F-G| = 4.9$).

Das intraoperativ entnommene Serum des Patienten 60 (60a) zeigt eine sehr hohe Opsonisierungsfunktion (vergleiche in Tab. 25 die Ansätze B mit F und G). - Das 8 Tage nach dem operativen Eingriff gewonnene Serum hat im Vergleich zur Voruntersuchung eine signifikant erniedrigte Funktionsrate (vergleiche in Tab. 25 die Ansätze B und G aus der ersten Untersuchung mit denen der zweiten Untersuchung), während das Poolserum bei der ersten und zweiten Untersuchung relativ konstante Ergebnisse brachte (s.Tab. 25, Ansätze A und F).

An-satz	PMW	Serum	PS	Patient 52 1h 2h	Patient 53 1h 2h	Patient 54 1h 2h	Patient 55 1h 2h	Patient 56 1h 2h
A	Pat	Pool	-	-73.1 -88.6	-89.1 -94.5	-73.4 -77.4	-62.9 -81.9	-64.2 -66.1
B	Pat	Pat	-	-75.7 -88.3	-78.9 -94.7	-84.5 -93.0	-90.6 -97.1	-53.6 -61.7
F	Kon	Pool	-	-88.7 -94.3	-73.7 -98.2	-93.5 -96.9	-89.5 -90.6	-87.0 -94.0
G	Kon	Pat	-	-87.2 -96.8	-89.3 -94.3	-82.2 -98.0	-89.9 -94.9	-73.1 -88.3
L	-	Pool	+	+545.1	- +350.0	- +117.3	- +9.5	- +778.0
M	-	Pat	+	+44.5	- +225.0	- +352.2	- -88.4	- -42.9
PMW- und Serum-funktionsdefekte				PMW + Serum -	PMW - Serum -	PMW + Serum -	PMW + Serum (-)	PMW +++ Serum +
Untersuchungsdatum				17.03.76	28.04.76	20.10.76	21.09.76	09.07.76
Name				T., Gü.	B., Marion	H., Peter	P., Peter	M., Erika
Alter, Geschlecht				9 1/2 Jahre, f.	11 1/2 Jahre, m.	12 Jahre, m.	5 1/2 Jahre, m.	13 Jahre, f.
Kontrollperson				M.	M.	Mo.	J.	M.
Labor				3800 L/50% Seg, IgG 1860 mg% IgA 358 mg% IgM 144 mg% x22.5	4500 L/47% Seg, Alb 730 E.co. 1:220 x4.22 Kl. x2.67 Pr. 1: 80 x10.7 Ps. 1: 10 x7.1 St. < 1: 10	5700 L/54% Seg, IgG 1190 mg% IgA 124 mg% IgM 107 mg%	12400 L/73% Seg, IgG 1130 mg% IgA 158 mg% IgM 168 mg% x11.6	6500 L/51% Seg, IgG 1130 mg% IgA 158 mg% IgM 168 mg% x11.6
Diagnose, Befund				chronische Pneumonie,	chron. rez. Infektionen der Lunge u. der oberen Luftwege	rezidivierende ulzeröse Stomatitis	Rundherd der Lunge (Aspergillus?)	Gastroenteritis
Therapie				Moronal, Antibiotika?	-	-	Chloramphenicol,	Colistin, Kaopront-H Saft,

Tab. 24: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von fünf Patienten mit verschiedenen Infektionen (s.a. Fallbeschreibung unter C. 1.3.3, S. 66 ff). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMW- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-,+) s.u. B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMW bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMW, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMW, f. = feminin, m. = maskulin, E. co. = Escherichia coli, Kl. = Klebsiella pneumoniae, Pr. = Proteus mirabilis, Ps. = Pseudomonas aeruginosa, St. = Staphylokokkus aureus, Elektrophoresewerte als relative Prozentangaben.

An- satz	PMW Serum	PBS	Patient 57 1h 2h	Patient 58 1h 2h	Patient 59 1h 2h	Patient 60a 1h 2h	Patient 60b 1h 2h
A	Pat Pool	-	-36.6 -72.9	-89.5 -95.5	-89.0 -96.0	-76.3 -89.0	-83.5 -86.1
B	Pat Pat	-	-41.8 -65.2	-90.9 -97.2	-82.7 -97.3	-92.0 -98.2	-84.0 -92.6
F	Kon Pool	-	-87.0 -94.0	-87.1 -98.1	-91.5 -96.3	-85.7 -95.6	-88.2 -96.1
G	Kon Pat	-	-84.4 -89.1	-96.8 -96.0	-91.2 -97.4	-98.0 -99.0	-93.6 -93.6
L	- Pool	+	- +778.0	- +712.7	- +27.8	- +517.2	- +264.6
M	- Pat	+	- +159.4	- +341.1	- +454.8	- +316.5	- +463.4
PMW- und Serum- funktionsdefekte	PMW +++ Serum +		PMW - Serum -	PMW - Serum -	PMW - Serum -	PMW - Serum -	PMW - Serum +
Untersuchungsdatum	09.07.76		18.02.76	03.02.76	27.01.76	04.02.76	
Name	F., Alexander		V., Güney	H., Jan	F., Tom		
Alter, Geschlecht	5 1/2 Jahre, m.		1 3/4 Jahre, f.	3 1/2 Jahre, m.	5 1/2 Jahre, ..		
Kontrollperson	M.		M.	M.	M.		M.
Labor	8500 L/55% Seg, IgG 1090 mg%, Alb. 634 IgA 122 mg% IgM 149 mg% 64 33 44 41 42 41 38 42		?	?	8100 L,		17800 L/67% Seg, Urin: Proteus mirabilis und Streptokokken,
Diagnose, Befund	Neurodermitis dif- fuse, unklare Fie- berschübe, Sinusi- tis maxillaris,		Zytomegalie, Neu- tropenie, rez. In- fektionen der obe- ren Luftwege,	Kuhmilchallergie	Operation wegen intraoperativ	Hypospadie postoperativ Harnwegsinfektion	
Therapie	Dracef-Saft		-	-	-	Bactrim-Saft	

Tab. 25: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von vier Patienten mit verschiedenen Infektionen, Patient 60 wurde zum Vergleich intra- und postoperativ untersucht (s.a. Fallbeschreibung unter C. 1.3.3, S. 66 ff). Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). Einteilung der PMW- und Serumfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung (-, +) s.u. B. 3.2, S. 21. Pool = Poolserum, Pat = Patienten-PMW bzw. Patientenserum, Kon = Kontroll-PMW, L = Leukozyten, Seg = segmentkernige neutrophile Granulozyten = PMW, f. = feminin, m. = maskulin, Elektrophoresewerte als relative Prozentangaben.

Granulozytenfunktion

Die Granulozyten der Patienten 53, 58 und 59 haben mit Poolserum wie mit autologen Seren nach 2h Inkubation ausnahmslos hohe Abtötungsraten (Über 94.0%, s. in Tab. 24 und 25 die Ansätze A und B), bei diesen Patienten kann daher nicht von einem Abtötungsdefekt gesprochen werden, auch wenn bei allen drei Patienten jeweils in den Ansätzen B, 1h Inkubation, im Vergleich zu den Kontrollansätzen niedrigere Bakterizidie-Raten vorzufinden sind (53/ 1h: $|B-G| = 10.4$; 58/ 1h: $|B-G| = 5.9$; 59/ 1h: $|B-G| = 8.5$).

Die Granulozyten der Patientin 52 haben eine signifikante Störung der Abtötungsfunktion: Mit Poolserum wie mit autologem Serum sind die Bakterizidie-Raten der Patienten-PMN niedriger als die der Kontroll-PMN (1h: $|A-F| = 15.6$, $|B-G| = 11.5$; 2h: $|A-F| = 5.7$, $|B-G| = 8.5$).

Auch bei Patient 54 könnte eine Granulozytenfunktionsstörung vorzuliegen: Mit autologem Serum haben die Patienten-PMN zwar nach 1h Inkubation eine geringfügig höhere Abtötungsrate als die Kontroll-PMN mit gleichem Serum (1h: $|B-G| = 2.3$), doch ist die Bakterizidie-Rate der Kontroll-PMN nach 2h Inkubation mit dem Patientenserum höher als die der Patienten-PMN (2h: $|B-G| = 5.0$) und mit Poolserum zeigen die Patienten-PMN wesentlich schlechtere Abtötungsraten als die Kontroll-PMN (1h: $|A-F| = 20.1$, 2h: $|A-F| = 19.5$).

Bei Patient 55 ist die Abtötungsfunktion der Patienten-PMN mit autologem Serum wegen des in diesem Serum enthaltenen Antibiotikums (s.Tab. 24, Ansatz M) nicht beurteilbar; die niedrige Bakterizidie-Rate der Patienten-granulozyten mit Poolserum weist jedoch auf eine Störung der Abtötungsfunktion hin (1h: $|A-F| = 26.6$, 2h: $|A-F| = 8.7$).

Die Granulozyten der Patienten 56 und 57 haben mit Poolserum und autologen Seren stark erniedrigte Bakterizidie-Raten (56/ 1h: $|A-F| = 22.8$, $|B-G| = 19.5$; 2h: $|A-F| = 27.9$, $|B-G| = 26.6$; - 57/ 1h: $|A-F| = 50.4$, $|B-G| = 42.6$; 2h: $|A-F| = 21.1$, $|B-G| = 23.9$).

Die Granulozyten des Patienten 60 haben bei beiden Untersuchungen mit Poolserum eine wesentlich niedrigere Abtötungsrate als die Kontroll-PMN (vergleiche in Tab. 25 die Ansätze A mit F). Dies muß jedoch nicht Ausdruck einer Granulozytenfunktionsstörung sein, da die Patienten-PMN mit autologem Serum ebenfalls bei beiden Untersuchungen nach 2h Inkubation ähnlich hohe Abtötungsraten aufweisen wie die Kontroll-PMN mit diesen Seren (vergleiche in Tab. 25 die Ansätze B mit G). Vielmehr scheinen die Patienten-PMN erst durch das Zusammenwirken mit autologen Serumopsoninen ihre maximale Abtötungskapazität entfalten zu können.

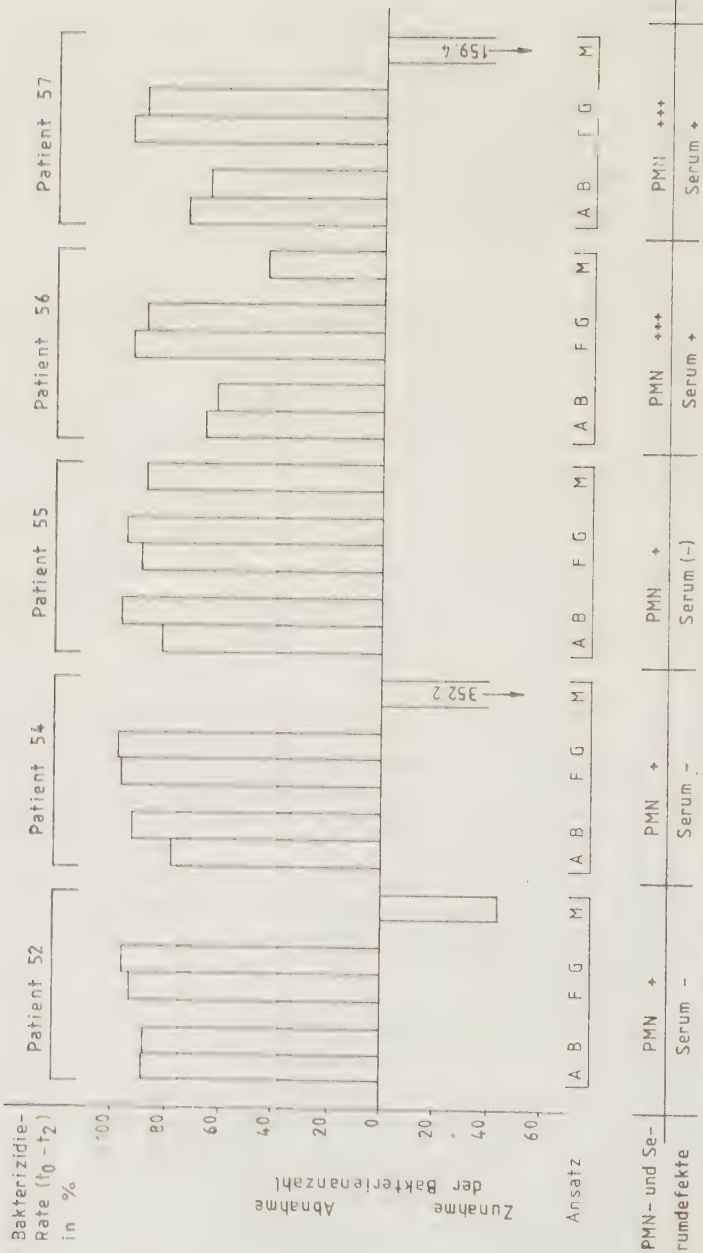


Abb. 17: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von fünf Patienten mit verschiedenen Infektionen (s.a. Tab. 24 und 25, sowie die Fallbeschreibungen unter Punkt C. 1, 3, 3, S. 66 ff.). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsaufsätze in den Tab. 24 und 25. Einteilung der PMN- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen -, +, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

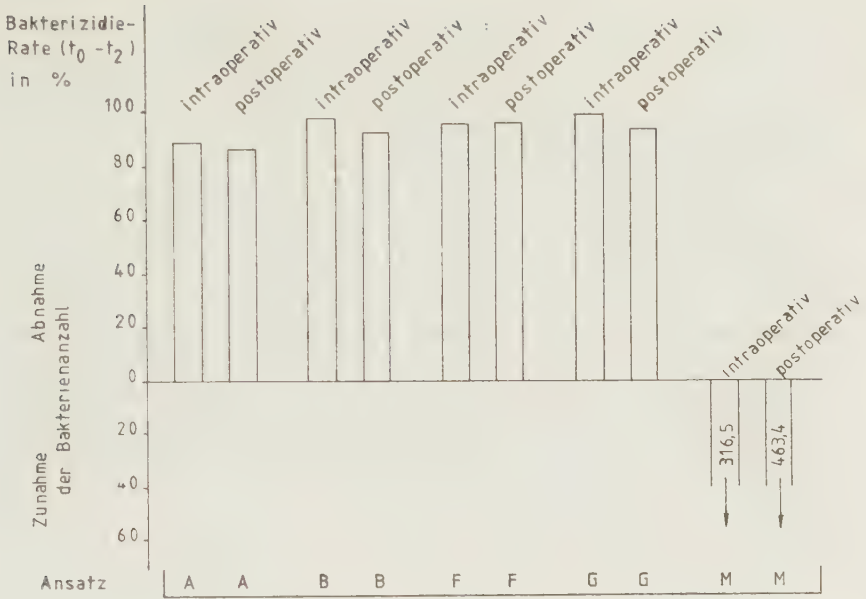


Abb. 18: Graphische Darstellung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion von einem Patienten mit Hypospadie und Harnwegsinfektion. Intra- und postoperative Untersuchung (s.a. Tab. 25 und Fallbeschreibung unter Punkt C. 1.3.3, S. 66 ff). Die Buchstaben A, B, F, G, M bezeichnen die Versuchsansätze in Tab. 25 .

Pat. zahl	Patientengruppe	Testanzahl		Anzahl der Fälle mit den verschiedenen Schweregraden											
		di- rekt	indi- rekt	PMN-Defekte					Serumdefekte						
				-	+	++	++	++	-	+	++	++	++		
Patienten mit primärer Immundefizienz															
4	Wiskott-Aldrich-Syndrom (Tab. 11)	5	-	1	2	1		1	4 (1)						
1	Septische Granulomatose (Tab. 12)	2	-					2		1	(1)				
6	Immundefekte (Tab. 13)	5	1	2		1	1	1	3 (1)				(1)	1	
1	Morbus Down (Tab. 14)	1	-					1		(1)					
3	Frühgeborene (Tab. 14)	-	3						2	(1)					
Patienten mit sekundärer Immundefizienz															
10	ALL (Tab. 15 und 16)	6	4	1	1			1	3	8 (2)					
1	AML, MPO-Mangel (Tab. 17)	3	-				1	2		(1)	1			1	
1	Verbrühung 50% (Tab. 20)	4	-				3	1		3 (1)					
1	Verbrennung 30% (Tab. 20)	-	1										(1)		
2	Splenektomie (Tab. 21)	4	-				1	3		1 (1)			1' (1')		
1	Urämie (Tab. 21)	1	-					1		(1)					
1	Diabetes mellitus (Tab. 21)	1	-		1					1					
Patienten ohne bekannte Immundefizienz															
5	Staphylokokkenabszesse (Tab. 22)	4	1	4						3	1 (1)				
9	Bakterielle Sepsis (Tab. 11, 16, 21 und 23)	5	8		2			2	1	6 (5)			1 (1)		
9	Verschiedene Infektionen (Tab. 24 und 25)	10	-	5	3			2		6 (1)	3				

Tab. 26: Legendentext auf Seite 73.

Legendentext Tabelle 26:

Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse der Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei den einzelnen Patientengruppen. Einteilung der Granulozyten- und Serumopsoninfunktionsdefekte in Schweregrade und deren Bezeichnung mit den Zeichen +, -, siehe unter Punkt B. 3.2, S. 21.

' = Patient hatte zusätzlich Morbus Hodgkin und Pneumokokkensepsis.

() = wegen Antibiotikagehalt des Serums eine sichere Beurteilung der Serumopsoninfunktion nicht möglich. Pat.zahl = Patientenanzahl pro Patientengruppe. Unter der Spalte Testanzahl wurde in direkte und indirekte Tests aufgeteilt und die Anzahl der jeweiligen Untersuchungen angegeben.

Direkter Test: Granulozyten- und Serumopsoninfunktion des Patienten wurde untersucht. Indirekter Test: Nur die Serumopsoninfunktion des Patienten wurde untersucht, nicht die Granulozytenfunktion. ALL = Akute lymphoblastische Leukämie. AML = Akute myeloblastische Leukämie. MPO = Myeloperoxidase.

2. Testgenauigkeit bei der Bakterizidieraten-Bestimmung.

Um eine Aussage über die Testgenauigkeit bzw. über die Güte der Ergebnisse durch unseren Versuchsansatz zu erhalten, bestimmen wir den Median $\tilde{x}$ und den Standardfehler des Medians $x_{(h)} \leq \tilde{\mu} \leq x_{(n-h+1)}$ aus dem Versuchsansatz Kontroll-PMN + Poolserum. Der angegebene Versuchsansatz bot sich hierfür besonders an wegen der konstanten Opsonisierungspotenz des Poolserums und der im wesentlichen doch gleichbleibenden Abtötungsfähigkeit der Kontrollgranulozyten, rhythmische Funktionsschwankungen der segmentkernigen Granulozyten sind beim Menschen jedoch bekannt, dies muß bei Betrachtung der Extremwerte berücksichtigt werden (3,4). Die Abtötungsraten wurden den Tabellen 11 - 18 und 20 - 25 entnommen.

1 h Inkubation:

$n = 53$, $x_{\min} = -31.3\%$, $x_{\max} = -97.2\%$,

Median $\tilde{x}$ entspricht $x_{27} = -87.7\%$,

der Vertrauensbereich des Medians ergibt sich aus

$$x_{(h)} \leq \tilde{\mu} \leq x_{(n-h+1)},$$

h errechnet sich nach

$$h = \frac{n - z\sqrt{n-1}}{2}$$

bei einer Vertrauenswahrscheinlichkeit von 95% ($\alpha = 0.05$) ist $z = 1.96$, somit

$$h = \frac{53 - 1.96 \times \sqrt{52}}{2} = 19.43$$

und

$$x_{19} \leq \tilde{\mu} \leq x_{35} = -84.8\% \geq \tilde{\mu} \geq -89.5\%$$

2 h Inkubation:

$n = 52$, $x_{\min} = -67.3\%$, $x_{\max} = -99.1\%$,

Median $\tilde{x}$ entspricht $\frac{x_{26} + x_{27}}{2} = -94.2\%$,

$$h = \frac{n - z\sqrt{n-1}}{2} = \frac{52 - 1.96 \times \sqrt{51}}{2} = 19.00$$

Somit ergibt sich ein Vertrauensbereich des Medians von

$$x_{19} \leq \tilde{\mu} \leq x_{34} = -91.8\% \geq \tilde{\mu} \geq -94.9\% \quad \text{bei } \alpha = 0.05$$

Bei beiden Stichprobenreihen (1 h und 2 h Inkubationszeit) wurde jeweils ein Extremwert als Ausreißer nicht berücksichtigt (1h: +76.1, 2h: -42.5), die Werte lagen weit außerhalb des 4~~5~~-Bereiches.

Bei einer statistischen Sicherheit von 95% ($\alpha = 0.05$) liegen zirka 91% der Werte der Grundgesamtheit zwischen dem kleinsten und größten Wert unseres Stichprobenumfanges $n = 53$ bzw. $n = 52$.

3. Untersuchungen mit Proopsonin.

3.1 In vitro Untersuchungen

3.1.1 Einfluß der Proopsoninkonzentration auf die Ergebnisse des Phagozytose-Bakterizidie-Tests (s.a. Tab. 27 und Abb. 19).

Das opsoninhaltige Präparat Proc sonin sollte auf seine Fähigkeit untersucht werden, die Bakterizidiekapazität von segmentkernigen Granulozyten zu beeinflussen und die Opsonisierungspotenz von Seren zu steigern bzw. Opsonisierungsdefekte zu korrigieren.

Zu Beginn unserer Untersuchungen mit Proopsonin mußte geklärt werden, ob unterschiedliche Konzentrationen des Proopsonins im Testansatz auch unterschiedliche Auswirkungen auf die Höhe der Phagozytose-Bakterizidie-Raten haben bzw. in welcher Verdünnungsstufe eine eventuell vorhandene Opsoninwirkung in der Testsubstanz Proopsonin optimal zum Tragen kommt.

Zu dieser Untersuchung wurden die Granulozyten von drei Testpersonen verwendet. Die Testpersonen 1 und 2 (TP 1 und TP 2) waren gesunde, erwachsene Versuchspersonen. Testperson 3 (TP 3) ist mit Patient 21 identisch. Bei TP 1 und TP 2 wurde Poolserum verwendet, bei TP 3 autologes Serum.

Es wurde mit folgenden vier Verdünnungsstufen gearbeitet:

Proteinkonzentration im Proopsonin 12.5 g/100 ml .

Erste Verdünnungsstufe (VST I):

Proopsoninkonzentrat : isotoner NaCl = 1 : 11.5 , dies entspricht einer Proteinkonzentration von 1 g pro 100 ml.

Zweite Verdünnungsstufe (VST II):

1 g Protein/100 ml : isotoner NaCl = 1 : 10 , entsprechend einer Proteinkonzentration von 0.091 g/100 ml.

Dritte Verdünnungsstufe (VST II):

0.091 g Protein/100 ml : isotoner NaCl = 1 : 10 , entsprechend einer Proteinkonzentration von 8.3 mg/100 ml.

Vierte Verdünnungsstufe (VST IV):

8.3 mg Protein/100 ml : isotoner NaCl = 1 : 10, entsprechend 0.75 mg/100 ml.

An- satz	PMN ml	Bakte- rien ml	Serum ml	Proopsonin		TP 1		TP 2		TP 3	
				ml	VST	1h	2h	1h	2h	1h	2h
A	.25	.05	.20	-		-	-87.9	-	-67.7	-47.0	-62.6
B	.25	.05	.15	.05	I	-77.3	-91.2	-	-86.8	-29.8	-69.4
C	.25	.05	.15	.05	II	-83.9	-92.4	-82.2	-84.2	-34.9	-40.2
D	.25	.05	.15	.05	III	-56.0	-84.3	-72.2	-88.5	-21.1	-45.8
E	.25	.05	.15	.05	IV	-	-72.1	-	-89.6	-18.9	-50.8

Tabelle 27: Ergebnisse der Untersuchung der Opsonisierungspotenz von Seren unter Zugabe von Proopsonin in verschiedenen Versuchskonzentrationen, siehe hierzu auch die Einteilung der vier Verdünnungsstufen mit jeweiligem Proteingehalt S. 76. Änderung der Bakterienanzahl in Prozent (- % = Abnahme, + % = Zunahme; to = 100%). PMN-, Bakterien- und Serumkonzentrationen siehe unter Material und Methode Punkt B. 2.1, 2.2 und 2.4, S. 13 - 15. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. VST = Verdünnungsstufe des Proopsonins. TP = Testperson.

Beschreibung der Ergebnisse:

Die jeweilig höchste Opsonisierungspotenz zeigte sich bei TP 1, 1h Inkubation, mit Verdünnungsstufe II (VST II, Ansatz C), nach 2h Inkubation mit VST I und II (Ansätze B und C);

bei TP 2 war nach 1h Inkubation die Opsonisierungspotenz mit VST II größer als mit VST III, nach 2h Inkubation sah man zwischen den einzelnen Verdünnungsstufen keinen signifikanten Unterschied.

Bei TP 3 zeigte der Ansatz mit VST I nach 2h Inkubation die höchste Opsonisierungspotenz, nach 1h Inkubation sah man mit VST II die stärkste Opsonisierungsfähigkeit, die Abtötungsrate im Ansatz ohne Proopsonin (Ansatz A) wurde jedoch nicht erreicht.

Aufgrund dieser Versuchsergebnisse führten wir die weiteren Untersuchungen mit Proopsonin in der ersten Verdünnungsstufe (VST I = 1 g Protein /100 ml) durch, eine weitere Verdünnung der Testsubstanz brachte keine signifikante Steigerung der Opsonisierungsfähigkeit in den verwendeten Seren.

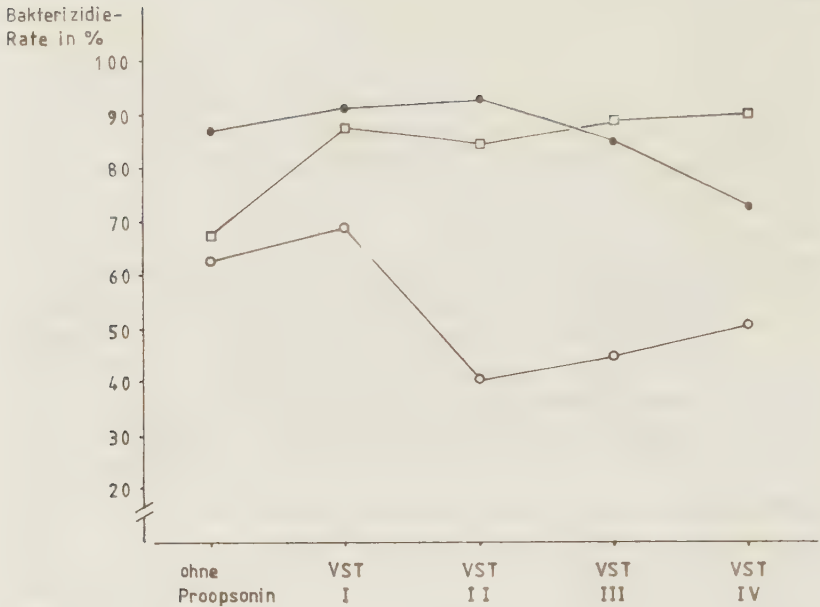


Abb. 19 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus der Untersuchung der Opsonisierungspotenz von Seren unter Zugabe von Proopsonin in verschiedenen Versuchskonzentrationen im Vergleich zu Seren ohne Proopsoninzugabe. Nur die Ergebnisse nach 2h Inkubationszeit sind hier dargestellt. Proteingehalt der verschiedenen Proopsonin-Verdünnungsstufen s. S. 76 . Abnahme der Bakterienanzahl in Prozent. ● - Testperson (TP) 1, □ - TP 2, ○ - TP 3 . Siehe hierzu auch Tabelle 27 und die Beschreibung der Untersuchungsergebnisse auf Seite 77 .

3.1.2 Phagozytose-Bakterizidie-Versuche mit dekomplementiertem, absorbiertem und filtriertem Serum (s.a. Tab. 28 und Abb. 20).

Um die Frage zu klären, in welchem Ausmaß thermolabile Serumbestandteile und in welchem Ausmaß gegen die Bakterienantigene gerichtete Antikörper des Serums an der Opsonisierung bzw. Phagozytoseerleichterung der Testbakterien (*Staphylokokkus aureus* S 10804) beteiligt sind, wurden Phagozytose-Bakterizidie-Versuche mit absorbiertem Serum, sowie mit Serum, welches 30 Minuten auf 56°C erhitzt wurde (dekomplementiertes Serum), unternommen.

Absorbiertes Serum wurde hergestellt, indem inaktivierte Teststaphylokokken (60 Minuten in Wasserbad von 85°C) im Überschuß mit Serum der gesunden Testperson bei 4°C 20 Stunden lang inkubiert wurde. Im nicht absorbierten Testserum war ein Antikörpertiter gegen *Staphylokokkus aureus* (Hämagglutinationstest) von 1 : 8 nachweisbar, nach Absorption konnten im Testserum mit der erwähnten Methode keine Staphylokokkenantikörper mehr nachgewiesen werden.

Der Einfluß niedrigmolekularer Serumbestandteile auf die Phagozytose-Bakterizidie-Rate von PMN wurde untersucht, indem Serum der Testperson durch ein Amikonfilter (PM 10) filtriert und der abgepresste Teil wie Serum im Bakterizidie-Test verwendet wurde. Das PM 10 Filter hält Moleküle vom MG 10 000 zu ungefähr 95% zurück. Dieses filtrierte Serum ist demnach größtenteils frei von Antikörpern und den Bestandteilen des Komplementsystems.

Durch Zugabe von Proopsonin und, zum Vergleich, eines im Handel bereits eingeführten Gammaglobulin-Präparates zu absorbiertem und zu dekomplementiertem Serum wurde untersucht, inwieweit derartige Präparate die gesetzten Serumdefekte kompensieren können. Die Versuchskonzentration bzw. Proteinkonzentration beider Präparate betrug auch bei dieser Untersuchung 1 g/100 ml.

Bei diesen Untersuchungen war eine gesunde Testperson Leukozyten- und Serumspender. Um Unterschiede in der Zusammensetzung der Opsoninfraktion des verwendeten Testserums zu vermeiden, wurde das Serum aus einer einzigen Blutentnahme gewonnen und bis zur Verwendung bei -30°C tiefgefroren.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in nachfolgender Tabelle (Tab. 28) zusammengefaßt und in Abbildung 20 graphisch dargestellt. Beschreibung der Ergebnisse auf Seite 82.

An- satz	PMN 5x10 ⁶ pro ml (ml)	Bakt. 2x10 ⁷ pro ml (ml)	Serum 20%-ig (ml)	Proopsonin oder Immunglobulin- präparat (1g%) (ml)	n	Bakterizidie- Raten (x bzw. x̄)	
						1h	2h
A	.25	.05	.20 NHS		2	-76.5	-95.3
B	.25	.05	.20 NHS _{abs.}		5	-65.3	-80.2
C	.25	.05	.10 NHS _{abs.}	.10 Proopsonin	1	-33.7	-62.1
D	.25	.05	.10 NHS _{abs.}	.10 Immunglob.	1	-74.7	-62.6
E	.25	.05	.20 NHS _{dek.+abs.}		5	-20.6	-26.6
F	.25	.05	.10 NHS _{dek.+abs.}	.10 Proopsonin	1	0.0	-47.8
G	.25	.05	.10 NHS _{dek.+abs.}	.10 Immunglob.	1	-62.8	-67.4
H	.25	.05	.20 NHS _{dek.}		2	- 3.2	-44.0
I	.25	.05	.10 NHS _{dek.}	.10 Proopsonin	1	+11.8	-48.2
K	.25	.05	.10 NHS _{dek.}	.10 Immunglob.	1	-27.2	-70.2
L	.25	.05	.20 NHS _{filtr.}		1	- 1.6	-33.9
M	.25	.05	.10 NHS _{filtr.}	.10 Proopsonin	1	+ 6.6	-42.2
N	.25	.05	.10 NHS _{filtr.}	.10 NHS _{dek.}	1	-14.4	-55.0
O	.25	.05	.10 NHS _{filtr.}	.10 NHS _{dek.+abs.}	1	-41.7	-38.9
P	.25	.05	.10 NHS _{filtr.}	.10 NHS _{abs.}	1	-69.8	-92.3
Q	-	.05		.20 Proopsonin + .25 PBS	1	+59.8	+40.2
R	-	.05		.20 Immunglob. + .25 PBS	1	- 6.6	- 9.8
S	.25	.05		.20 PBS	2	- 1.7	+24.1

Tab. 28: Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Phagozytose-Bakterizidie-Versuchen mit normalem humanem Serum (NHS), absorbiertem Serum (NHS_{abs.}), dekomplementiertem Serum (NHS_{dek.}), absorbiertem und zugleich dekomplementiertem Serum (NHS_{dek.+abs.}) sowie filtriertem Serum (NHS_{filtr.}). Angabe der Bakterienzahländerung (Bakterizidie-Rate) in Prozent (Bakterienzahl zum Zeitpunkt t₀ = 100%; -% = Bakterienabnahme, +% = Bakterienzunahme). Durch Zugabe von Proopsonin bzw. eines Immunglobulinpräparates wurde untersucht, inwieweit diese Präparate die in den Seren gesetzten Defekte kompensieren können. Siehe auch die graphische Darstellung der Ergebnisse in Abbildung 20 und die textliche Erläuterung auf den Seiten 79 und 82. PBS = phosphate buffered Saline. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. n = Fallzahl der Testansätze.

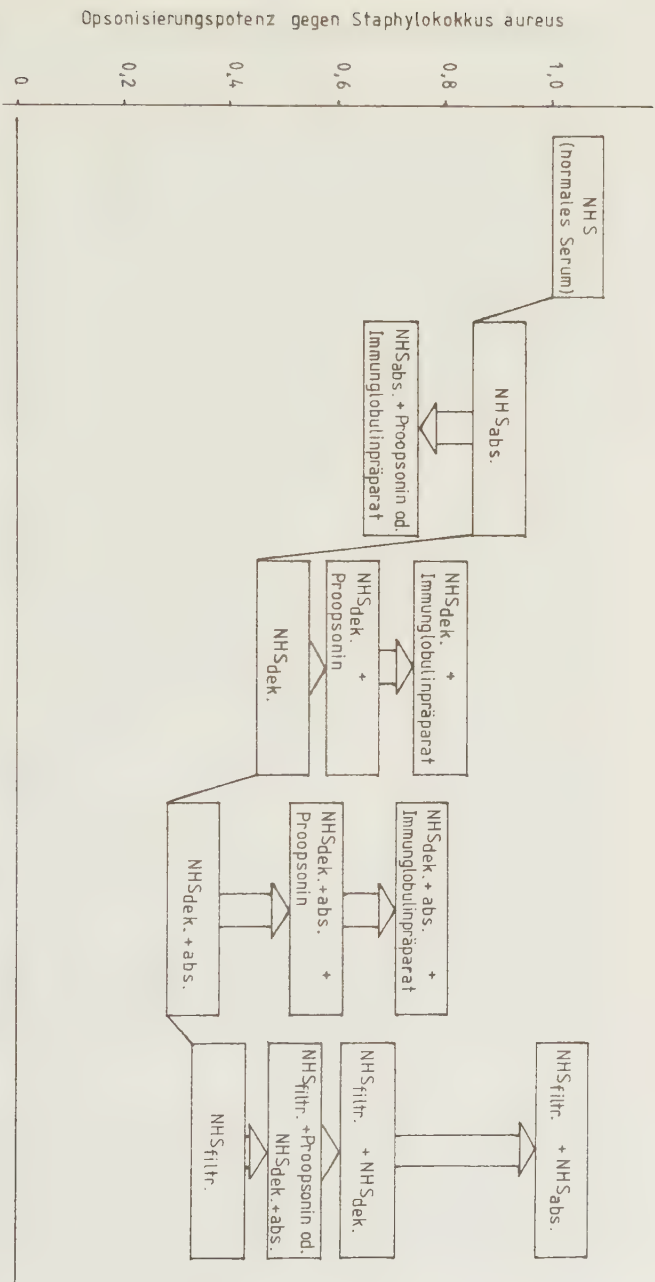


Abb. 20 : Schematische Darstellung der Opsonisierungspotenz von normalem humanem Serum (NHS), absorbiertem Serum (NHSabs.), dekompimentiertem Serum (NHSdek.), absorbiertem und zugleich dekompimentiertem Serum (NHSabs. + dek.) sowie filtertem Serum (NHSfiltr.) gegen Staphylokokkus aureus des Stammes S 10884. Dargestellt ist auch die Opsonisierungspotenz obgenannter Serumpräparationen in Kombination mit Proopsonin und mit einem schon im Handel befindlichen Immunglobulinpräparat. Die Bakterizidrate des Ansatzes mit NHS (Tab. 28; A/2h : -95,3%) entspricht einer Opsonisierungspotenz von 1.0 (= 100%). Dargestellt sind nur die Ergebnisse nach 2h Inkubation.

Den Ergebnissen nach 2h Inkubationszeit wird, in der Annahme einer grösseren Testgenauigkeit im Gegensatz zu 1h Inkubationszeit (s.a. Seite 74), bei der Bewertung mehr Gewicht beigemessen.

Die Segmentkernigen (PMN) vermögen bei Anwesenheit in absorbiertem Serum im Gegensatz zu dem Ansatz mit NHS die Teststaphylokokken nicht mehr optimal abzutöten. Zugabe von Proopsonin und von einem Immunglobulinpräparat verschlechtert die opsonisierende Aktivität des absorbierten Serums (außer Ansatz D, 1h Inkubation in Tab. 28).

Wird das absorbierte Serum zusätzlich 30 Minuten bei einer Temperatur von 56°C in einem Wasserbad inkubiert (Dekomplementierung), so verschlechtert sich die Serumopsoninfunktion in beträchtlichem Maße. Proopsonin (nach 2h Inkubation) und mehr noch das Immunglobulinpräparat verbessert die Opsonisierungspotenz des so vorbehandelten Serums.

Werden im Serum nur die thermolabilen Stoffgruppen zerstört (Inkubation des Serums über 30 Minuten in Wasserbad von 56°C), so ist der Opsonisierungsdefekt zwar wesentlich größer als in absorbiertem Serum, jedoch nicht so ausgeprägt wie in Serum, aus welchem die Antikörper gegen Staphylokokkus aureus absorbiert und zusätzlich die thermolabilen Proteine durch Hitze inaktiviert wurden. Das Immunglobulinpräparat kann wiederum besser als Proopsonin den Defekt teilweise kompensieren.

Die Funktionswerte von filtriertem Serum entsprechen etwa den Werten von dem Serum, welches absorbiert und zusätzlich dekomplementiert wurde. Kombiniert man filtriertes mit absorbiertem plus dekomplementiertem Serum (Ansatz D, Tab. 28), so ergibt sich (nach 2h Inkubation) nur eine geringfügige Steigerung der Opsonisierungspotenz gegenüber filtriertem Serum. Proopsonin kann die Opsoninfunktion von filtriertem Serum nur wenig verbessern. Dekomplementiertes Serum bewirkt eine höhere Steigerung der Abtötungsrate von filtriertem Serum als Proopsonin, die Bakterizidie-Rate liegt in dieser Serumkombination auch höher als bei dekomplementiertem Serum alleine. Filtriertes Serum, kombiniert mit absorbiertem Serum kommt nahe an die Opsonisierungspotenz von normalem humanem Serum heran.

Die beiden Ansätze ohne Segmentkernige zeigen, daß die Staphylokokken bei diesem Testansatz in Proopsonin anwachsen konnten, während sie in der Immunglobulinlösung eine leichte Abnahme zu verzeichnen haben. Das Verhalten der Bakterien in der Immunglobulinlösung wird wohl zu einem gewissen Teil auch von der antibakteriell wirkenden Komponente des Immunglobulinpräparates, Merthiolat (einem Bakteriostatikum), beeinflusst.

3.1.3 Wachstumsverhalten der Teststaphylokokken in Serum, in Serum + Proopsonin und in Proopsonin allein.

Bei unseren Phagozytose-Bakterizidie-Versuchen wurden jeweils auch Ansätze ohne Granulozytenzugabe, nur mit den beiden Serumpräparationen Poolserum und Patientenserum bzw. Serum-Proopsoningemischen und Proopsonin allein, auf ihre Fähigkeit hin untersucht, das Wachstumsverhalten der Teststaphylokokken S 10804 zu beeinflussen. Auch bei diesen Versuchen Einsaat der Bakterien in einer Konzentration von 2×10^7 Bakterien/ml. Siehe hierzu auch das Versuchsschema in Tabelle 6, Seite 18, Ansätze L, M, N, O, P. Ausgewertet wurden nur die Ergebnisse nach 2h Inkubationszeit.

3.1.3.1 Bakterien in Poolserum (s.a. Abb. 21)

Die Teststaphylokokken konnten sich nach 2h Inkubation in Poolserum ohne PMN-Zugabe in 29 von 30 Fällen vermehren. In einem Fall nahm die Bakterienanzahl ab. Im statistischen Vergleich beider Häufigkeiten muß bei einseitiger Fragestellung die H_0 -Hypothese (kein signifikanter Unterschied zwischen den Fallzahlen: Zunahme bzw. Abnahme der Bakterienzahl) auf dem 1% - Niveau abgelehnt werden:

$$x_1 = 29, x_2 = 1; v_1 = 2(x_2 + 1), v_2 = 2 \times x_1;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.01};$$

$$\text{somit } \hat{F} = \frac{29}{2} = 14.5 > 3.65 = F_{4, 58; \alpha = 0.01}.$$

Die Häufigkeitsverteilung ist auch in Abbildung 21 in Form eines Histogrammes graphisch dargestellt. Hierzu Einordnung der jeweiligen prozentualen Bakterienzahländerung in Prozentintervalle von 100%. Das Maximum der Fallzahlen stellt sich hier im 300-400% Intervall dar (+% = Zunahme).

3.1.3.2 Bakterien in Proopsonin (s.a. Abb. 22)

In 27 Tests wurde das Wachstumsverhalten der Teststaphylokokken in Proopsonin (1g%) beobachtet. Nach 2h Inkubation war in 19 Fällen eine Bakterienzahlzunahme zu verzeichnen, in 8 Fällen eine Abnahme. Hier muß im

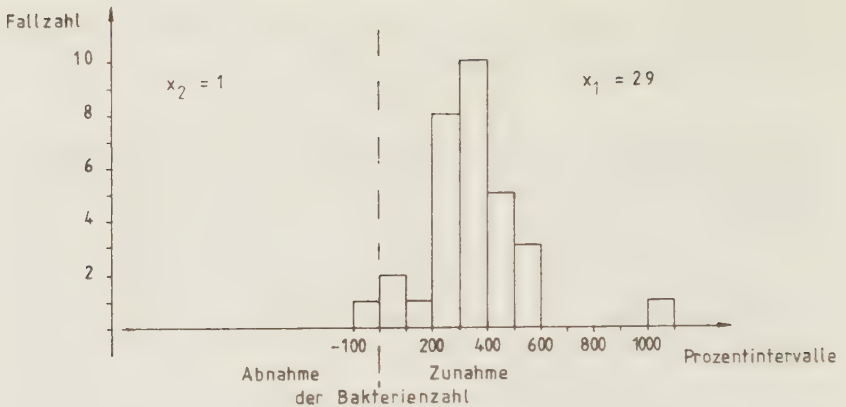


Abb. 21 : Graphische Darstellung des Wachstumsverhaltens der Testbakterien in Poolserum nach 2 Stunden Inkubationszeit. Einteilung der Ergebnisse (prozentuale Bakterienzahländerung) in Prozentintervalle von 100 % und Darstellung der Häufigkeitsverteilung in den Intervallen in einem Histogramm. Ordinate = Fallzahl in den Intervallen; Abszisse = prozentuale Bakterienzahländerung, eingeteilt in Prozentintervalle. - % = Abnahme, + % = Zunahme der Bakterienzahl. Beschreibung der Ergebnisse s.u. Punkt 3.1.3.1, Seite 83 .

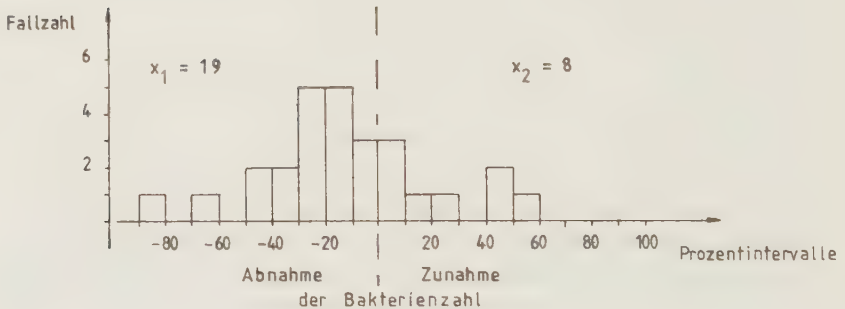


Abb. 22 : Graphische Darstellung des Wachstumsverhaltens der Testbakterien in Proopsonin nach 2 Stunden Inkubationszeit. Einteilung der Ergebnisse (prozentuale Bakterienzahländerung) in Prozentintervalle von 10 % und Darstellung der Häufigkeitsverteilung in den Intervallen in einem Histogramm. Ordinate = Fallzahl in den Intervallen; Abszisse = prozentuale Bakterienzahländerung, eingeteilt in Prozentintervalle. - % = Abnahme, + % = Zunahme der Bakterienzahl. Beschreibung der Ergebnisse s.u. Punkt 3.1.3.2 , Seite 83 und 85 .

Vergleich beider Häufigkeiten bei einseitiger Fragestellung die Ho-Hypothese auf dem 5%-Niveau abgelehnt werden (Ho = kein signifikanter Unterschied zwischen den Fallzahlen):

$$x_1 = 19, x_2 = 8 ; v_1 = 2(x_2 + 1), v_2 = 2 \times x_1 ;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05} ;$$

$$\text{somit } \hat{F} = \frac{19}{9} = 2.11 > 1.88 = F_{18, 38; \alpha = 0.05} .$$

Die graphische Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Fallzahlen erfolgt in Abbildung 22 in Form eines Histogrammes. Hier Einordnung der prozentualen Bakterienzahländerung in Prozentintervalle von 10% . Das Maximum der Fallzahlen befindet sich zwischen -10% und -30% (-% = Abnahme der Bakterien).

3.1.3.3 Vergleich des Bakterienwachstums in Poolserum mit dem Bakterienwachstum in Poolserum + Proopsonin (s.a. Abb. 23)

Um die Frage klären zu können, ob Proopsonin auch in Kombination mit normalem Serum eine bakteriostatische Aktivität gegen die Teststaphylokokken besitzt, wurde bei jedem Bakterizidie-Test das Bakterienwachstum in Poolserum und in Poolserum + Proopsonin ohne Granulozytenzugabe untersucht (siehe auch Ansatzschema in Tabelle 6, Seite 18).

Zum Vergleich des Bakterienwachstums in den genannten beiden Medien, Poolserum bzw. Poolserum + Proopsonin, wurde dann für jeden Test jeweils die Differenz gebildet zwischen der prozentualen Bakterienzahländerung in Poolserum und der prozentualen Bakterienzahländerung in Poolserum + Proopsonin. Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse in Form eines Histogrammes (Abb. 23) Einordnung der Differenzen in Prozentintervalle von 50 % .

In 24 von 27 untersuchten Fällen ergab sich in Poolserum + Proopsonin ein schlechteres Wachstum als in Poolserum allein (s.a. Abb. 23). In den restlichen 3 Fällen wuchsen die Bakterien in Poolserum allein schlechter. Beim statistischen Vergleich beider Häufigkeiten wird bei einseitiger Fragestellung die Ho-Hypothese (Wachstum der Teststaphylokokken in Pool-

serum + Proopsonin nur zufällig schlechter als in Poolserum allein) auf dem 1% - Niveau verworfen:

$$x_1 = 24, x_2 = 3; v_1 = 2(x_2 + 1), v_2 = 2 \times x_1 ;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.01} .$$

$$\text{somit} \quad \hat{F} = \frac{24}{4} = 6 > 2.91 = F_{8, 48; \alpha = 0.01} .$$

In Abbildung 23 zeigt sich ein doppelgipfliges Maximum der Fallzahlen; beide Teilmaxima befinden sich auf der Seite des schlechteren Wachstums der Bakterien in Poolserum + Proopsonin.

3.1.3.4 Vergleich des Bakterienwachstums in Patientenserum mit dem Bakterienwachstum in Patientenserum + Proopsonin (s.a. Abb. 24)

Hier wurde das Bakterienwachstum in den Testansätzen Patientenserum und Patientenserum + Proopsonin ohne Granulozytenzusatz verglichen (siehe Ansatzschema in Tab. 6, Seite 18). Wie schon unter Punkt 3.1.3.3 sollte hiermit eine eventuell vorhandene, gegen die Testbakterien gerichtete, bakteriostatische Wirkung des Proopsonins in Kombination mit Patientenserum nachgewiesen werden.

Zum Vergleich des Bakterienwachstums in den genannten Versuchsmedien, Patientenserum und Patientenserum + Proopsonin, wurde wiederum für jeden Test jeweils die Differenz gebildet zwischen der prozentualen Bakterienzahländerung in Patientenserum und derjenigen in Patientenserum + Proopsonin. Die Differenzen wurden in Prozentintervalle von 50% geordnet. Die Fallzahl der Differenzen in den einzelnen Intervallen wurde dann in einem Histogramm graphisch dargestellt (Abb. 24).

In 33 Fällen konnte das Wachstumsverhalten der Teststaphylokokken in den beiden Medien beobachtet werden. In einem Fall ergab sich kein Wachstumsunterschied zwischen den beiden Medien, die Differenz war gleich Null. In 18 Fällen sah man in Patientenserum + Proopsonin ein schlechteres Bakterienwachstum als in Patientenserum allein, in 14 Fällen war das Wachstum der Bakterien in Patientenserum allein schlechter. Es muß jedoch vermerkt werden, daß sich in 11 von den 14 Fällen, bei denen die Testbakte-

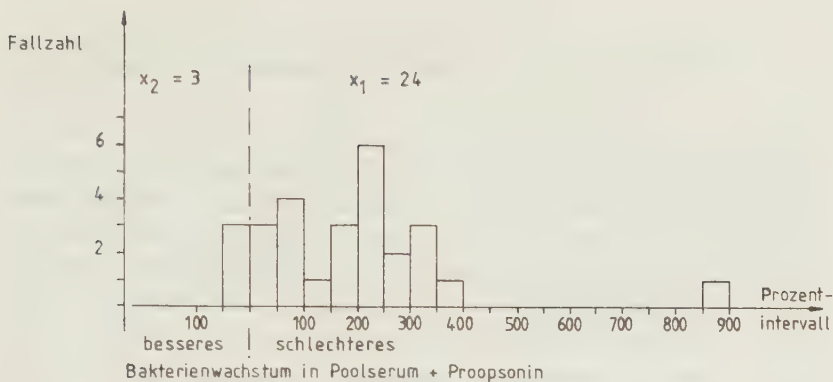


Abb. 23: Vergleich des Bakterienwachstums in Poolserum mit dem in Poolserum + Propopsonin nach 2h Inkubation. Darstellung der jeweiligen Differenzen aus der Bakterienzahländerung ohne und der mit Propopsonin im Poolserum. Einteilung der Differenzen in Prozentintervalle von 50% und Auftragen der Häufigkeiten in den Prozentintervallen in einem Histogramm. Unterteilung der Gesamtfallzahl in besseres (x_2) und in schlechteres (x_1) Bakterienwachstum in dem Medium Poolserum + Propopsonin. Beschreibung der Ergebnisse siehe unter Punkt 3.1.3.3, Seite 85.

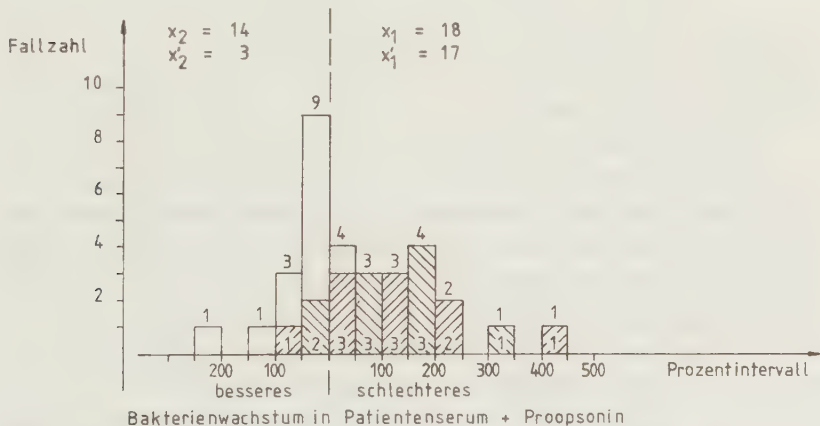


Abb. 24: Vergleich des Bakterienwachstums in Patientenserum mit dem in Patientenserum + Propopsonin nach 2h Inkubation. Darstellung der jeweiligen Differenzen aus der Bakterienzahländerung ohne und der mit Propopsonin in Patientenserum. Einteilung der Differenzen in Prozentintervalle von 50% und Auftragen ihrer Häufigkeiten in einem Histogramm. Unterteilung der Gesamtfallzahl in besseres (x_2) und in schlechteres (x_1) Bakterienwachstum in Patientenserum + Propopsonin. Schraffierte Säulen bezeichnen die Fälle ohne Antibiotika im Serum (x_1, x_2 ; Einzelfallzahl in den Säulen angegeben); die Anzahl der Gesamtfälle in den Intervallen ist über den Säulen angegeben. Siehe auch den Text unter Punkt 3.1.3.4, Seite 86.

rien in Patientenserum allein ein schlechteres Wachstumsverhalten zeigten als in Patientenserum + Proopsonin, aus therapeutischen Gründen Antibiotika in den Seren befanden. Dagegen war nur in einem von den 18 Fällen mit schlechterem Bakterienwachstum in Patientenserum + Proopsonin Antibiotika enthalten. Die Antibiotika zeigten jeweils eine gute antimikrobielle Wirksamkeit gegen die Teststaphylokokken. Durch die Proopsoninzugabe zu antibiotikahaltigem Serum wurde die Konzentration des Chemotherapeutikums und damit seine antimikrobielle Wirkung verringert, die Testbakterien konnten sich deshalb in Serum-Proopsoningemischen besser vermehren als in den betreffenden Seren alleine.

Bei beiden Häufigkeitspaaren, den primären Fallzahlen $x_1 = 18$ und $x_2 = 14$, sowie den Fallzahlen ohne Antibiotika im Serum $x_1^I = 17$ und $x_2^I = 3$, wurde im statistischen Vergleich zweier Häufigkeiten bei einseitiger Betrachtungsweise die H_0 -Hypothese überprüft (H_0 = kein signifikanter Unterschied zwischen x_1 und x_2 bzw. zwischen x_1^I und x_2^I). Bei den primären Fallzahlen wird die H_0 -Hypothese auf dem 5% - Niveau beibehalten:

$$x_1 = 18, \quad x_2 = 14; \quad v_1 = 2(x_2 + 1), \quad v_2 = 2 \times x_1;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \leq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05};$$

$$\text{somit} \quad \hat{F} = \frac{18}{15} = 1.2 < 1.79 = F_{29, 36; \alpha = 0.05}.$$

Bei den Fallzahlen ohne Antibiotika in den Seren wird die H_0 -Hypothese (s.o.) auf dem 1% - Niveau abgelehnt; in einer signifikanten Anzahl der Fälle ist das Bakterienwachstum in Patientenserum + Proopsonin schlechter als in Patientenserum allein:

$$x_1^I = 17, \quad x_2^I = 3; \quad v_1^I = 2(x_2^I - 1), \quad v_2^I = 2 \times x_1^I;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1^I}{x_2^I - 1} \geq F_{v_1^I, v_2^I; \alpha = 0.01};$$

$$\text{somit} \quad \hat{F} = \frac{17}{4} = 4.25 > 3.09 = F_{8, 34; \alpha = 0.01}.$$

3.1.4 Untersuchungen über den Einfluß des Proopsonins auf die Opsonisierungspotenz von Poolserum und Patientenserum.

Zur Klärung der Frage, in welcher Weise und in welchem Ausmaß die Opsonisierungspotenzen von Poolserum bzw. Patientenserum gegen die Teststaphylokokken durch Zugabe von Proopsonin beeinflusst werden, testeten wir bei jeder Phagozytose-Bakterizidie-Untersuchung auch jeweils Versuchsansätze von Poolserum bzw. von Patientenserum kombiniert mit Proopsonin. Siehe hierzu auch Testblattmuster I auf Seite 18, Abbildung 6 .

Zur Auswertung der Ergebnisse wurde jeweils die Differenz gebildet zwischen der prozentualen Bakterienzahländerung mit Proopsoninzusatz und der ohne Proopsoninzusatz. Die Einzelwerte dieser Differenzbildungen wurden, eingeteilt in Prozentintervalle, in Form eines Histogrammes graphisch dargestellt (Abb. 25 - 32). In den Abbildungen ist auch der Mittelwert der jeweils dargestellten Differenzwerte ($\bar{x}$) mit angegeben.

In Tabelle 29 wurden für die vier verschiedenen Granulozyten-Serum-Kombinationen (Patientengranulozyten + Poolserum, Patientengranulozyten + Patientenserum, Kontrollgranulozyten + Poolserum, Kontrollgranulozyten + Patientenserum) die jeweiligen Gesamtfallzahlen (N) angegeben, sowie deren Aufteilung in die Fallzahlen n_1 (= mit Proopsonin bessere Opsonisierungspotenz) und Fallzahlen n_2 (= mit Proopsonin schlechtere Opsonisierungspotenz). In Tabelle 29 ist auch der prozentuale Anteil der Fälle angeführt, in denen mit Proopsonin eine bessere Opsonisierung erzielt wurde. Außerdem wird in einer weiteren Spalte angegeben, ob sich die jeweiligen Fallzahlen n_1 und n_2 nur zufällig unterscheiden (H_0 - Hypothese) oder ob sich n_1 und n_2 in signifikanter Weise unterscheiden (Alternativhypothese H_1). Die Signifikanz wurde bestimmt im statistischen Vergleich zweier Häufigkeiten, die Signifikanzschranken in der tabellierten F-Verteilung abgelesen:

Im statistischen Vergleich zweier Häufigkeiten bei einseitiger Betrachtungsweise mußte die H_0 - Hypothese lediglich im Ansatz, Patienten-PMN + Poolserum bei 1 h Inkubation, auf dem 5 % - Niveau verworfen und die Alternativhypothese H_1 angenommen:

Ansatz	Inkubationszeit in Stunden	Gesamtfallzahl N	Opsonisierung mit Proopsonin		Gewählte Hypothese
			besser n ₁	schlechter n ₂	
Patienten-PMW + Poolserum	1	33	23 (69.7)	10	H ₁
	2	33	19 (57.6)	14	H ₀
Patienten-PMW + Patientenserum	1	34	19 (55.9)	15	H ₀
	2	34	15 (44.1)	19	H ₀
Kontroll-PMW + Poolserum	1	28	15 (53.6)	13	H ₀
	2	28	13 (46.4)	15	H ₀
Kontroll-PMW + Patientenserum	1	33	17 (51.5)	16	H ₀
	2	33	18 (54.3)	15	H ₀

Tab. 29 : Tabellarische Zusammenfassung der in vitro Untersuchungsergebnisse über den Einfluß des Proopsonins auf die Opsonisierungspotenz von Poolserum und Patientenserum. Es ist jeweils die gesamte Anzahl der untersuchten Fälle (N) angegeben, sowie deren Aufteilung in die Fallzahlen n₁ (Opsonisierungspotenz des Serums mit Proopsoninzusatz besser) und die Fallzahlen n₂ (Opsonisierungspotenz des Serums mit Proopsoninzusatz schlechter). Der prozentuale Wert von n₁ (N = 100 %) ist in Klammern hinter der jeweiligen Fallzahl n₁ wiedergegeben. Die H₀-Hypothese wurde beibehalten, wenn sich die Fallzahlen n₁ und n₂ im statistischen Vergleich zweier Häufigkeiten bei einseitiger Betrachtungsweise mit p = 0.05 nur zufällig unterschieden; die Alternativhypothese H₁ wurde gewählt bei signifikantem Unterschied zwischen den Fallzahlen n₁ und n₂ in obengenanntem statistischem Test. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff und die Abbildungen 25 bis 32 auf Seite 92 - 95. PMW = polymorphkernige neutrophile Granulozyten.

$$n_1 = 23 \quad , \quad n_2 = 10 \quad , \quad v_1 = 2 (n_2 + 1) \quad , \quad v_2 = 2 \times n_1 \quad .$$

$$\hat{F} = \frac{n_1}{n_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05}$$

$$\hat{F} = \frac{23}{11} = 2.09 > 1.18 = F_{22, 46; \alpha = 0.05} \quad .$$

Bei den übrigen Häufigkeitspaaren n_1 bzw. n_2 konnten im statistischen Vergleich zweier Häufigkeiten bei einseitiger Betrachtungsweise die H_0 - Hypothese auf dem 5% - Niveau beibehalten werden, somit ergaben sich hier keine signifikanten Unterschiede zwischen n_1 und n_2 . Rechnerisch angeführt wird hierbei stellvertretend für die anderen Ansätze der Vergleich der beiden Häufigkeiten n_1 und n_2 bei dem Testansatz Patientengranulozyten + Poolserum bei 2h Inkubation:

$$n_1 = 19 \quad , \quad n_2 = 14 \quad , \quad v_1 = 2 (n_2 + 1) \quad , \quad v_2 = 2 \times n_1 \quad .$$

$$\hat{F} = \frac{n_1}{n_2 + 1} \leq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05}$$

$$\hat{F} = \frac{19}{15} = 1.26 \leq 1.76 = F_{30, 38; \alpha = 0.05} \quad .$$

Durch Proopsoninzusatz zu Serum konnte somit lediglich bei den Ansätzen Patientengranulozyten + Poolserum bei 1h Inkubation in einer signifikanten Fallzahl eine Verbesserung der Serumopsoninfunktion erreicht werden. In den übrigen Ansätzen (Patientengranulozyten - Patientenserum, Kontrollgranulozyten + Poolserum, Kontrollgranulozyten - Patientenserum, Patientengranulozyten + Poolserum nach 2h Inkubation) sind die Fallzahlen n_1 und n_2 nur zufällig verschieden, durch Proopsoninzugabe konnte somit hier keine signifikante Veränderung der Serumopsonineigenschaften erreicht werden.

Ähnliche Ergebnisse ergeben sich auch bei Betrachtung der Abbildungen 25 bis 32, bei der Berechnung der Mittelwerte aus den Differenzen von den Bakterizidieraten ohne Proopsonin minus den Bakterizidieraten mit Proopsonin ergab sich der höchste negative Wert in Abbildung 25 (Patienten-PMN

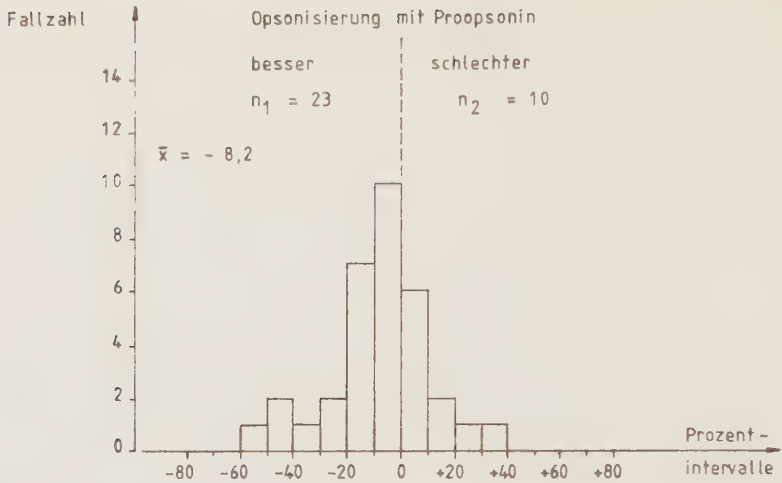


Abb. 25: Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Patienten-PMN + Poolserum, 1 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzwerte. Siehe hierzu auch unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

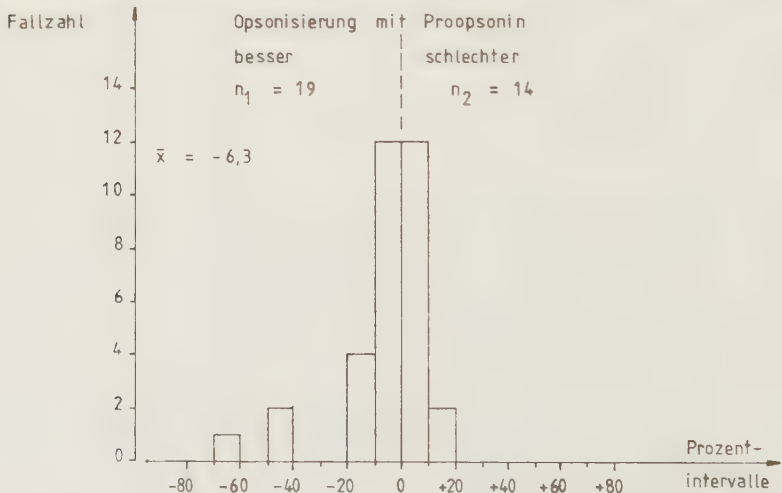


Abb. 26: Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Patienten-PMN + Poolserum, 2 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzwerte. S. a. Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

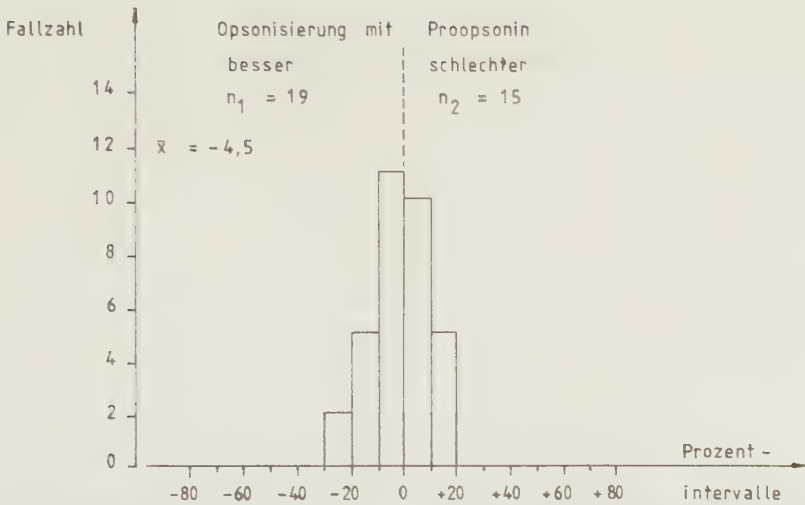


Abb. 27: Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Patienten-PMN + Patientenserum, 1 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

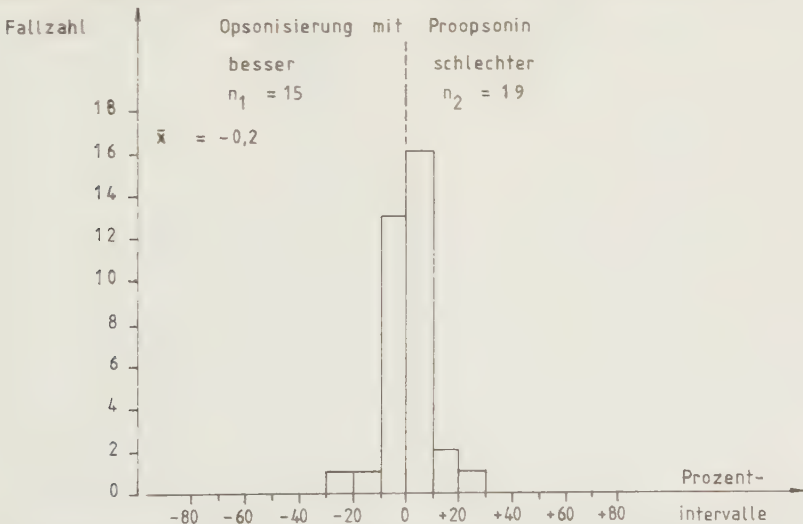


Abb. 28 : Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Patienten-PMN + Patientenserum, 2 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

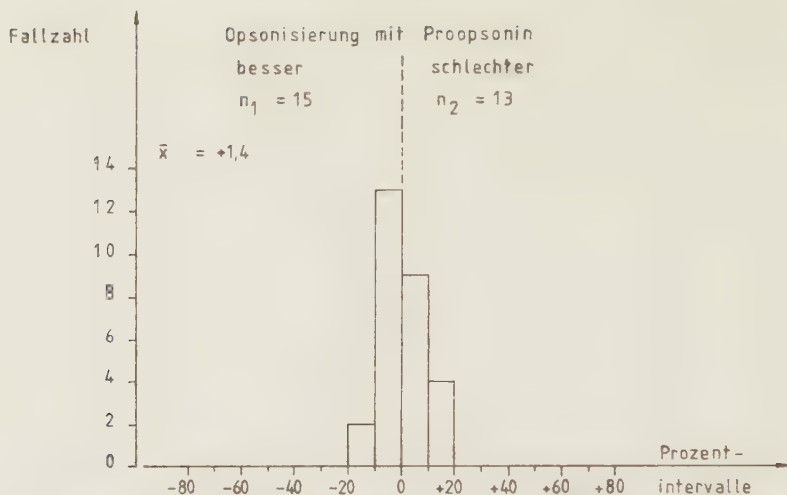


Abb. 29 : Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Kontroll-PMN + Poolserum, 1 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

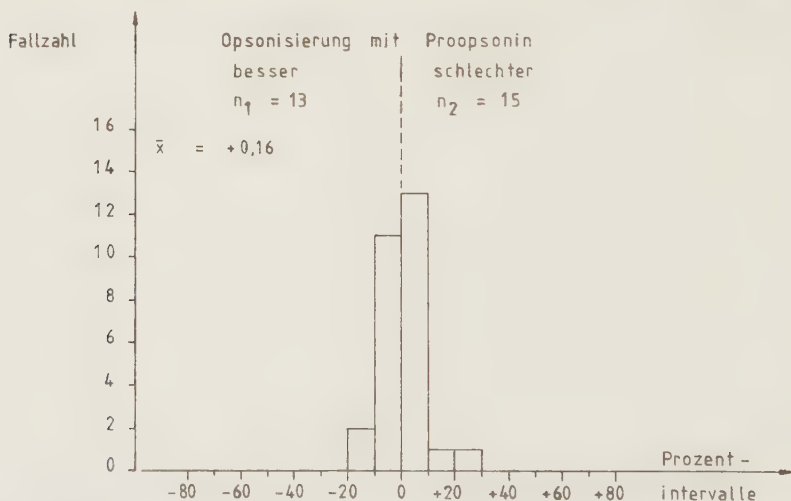


Abb. 30 : Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Kontroll-PMN + Poolserum, 2 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff.

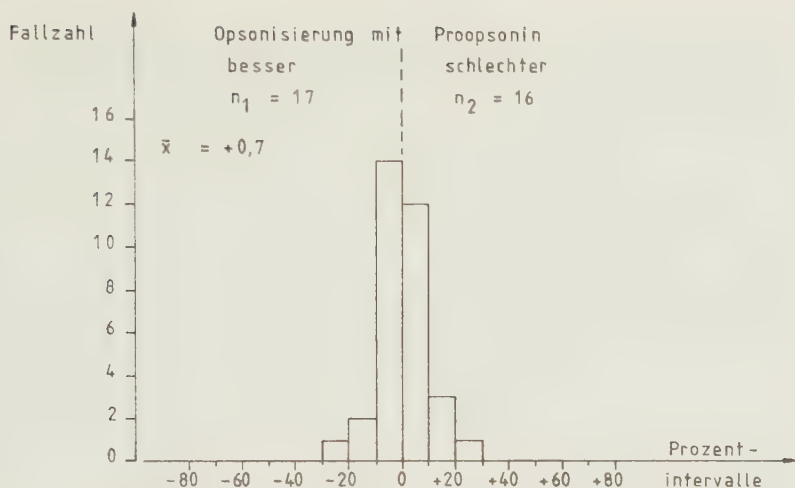


Abb. 31 : Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Kontroll-PMN + Patientenserum, 1 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff .

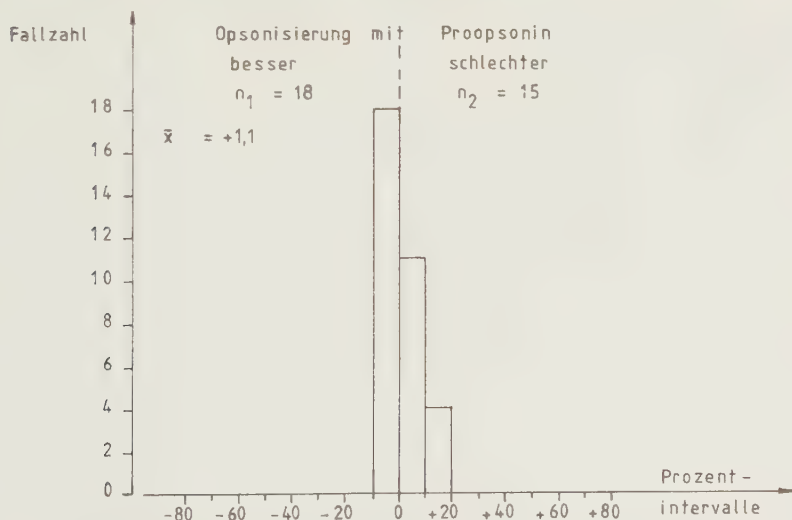


Abb. 32 : Darstellung der Differenzen zwischen den Bakterizidieraten mit Proopsonin und denen ohne Proopsonin. Hier die Ansätze Kontroll-PMN + Patientenserum, 2 h Inkubationszeit. Differenzwerte in Prozentintervalle eingeteilt und als Fallzahlen aufgetragen. $\bar{x}$ = Mittelwert der Differenzen. Siehe hierzu auch den Text unter Punkt 3.1.4, Seite 89 ff .

+ Poolserum, 1h Inkubation), dies bedeutet, daß die Serumopsoninfunktion durch Zusatz von Proopsonin am ehesten bei diesen Versuchsansätzen verbessert werden konnte.

Bei den Versuchsansätzen der Abb. 26 bis 28 , (Patienten-PMN + Poolserum nach 2h Inkubation, Patienten-PMN + Patientenserum nach 1h und 2h Inkubation) befindet sich der Mittelwert der Differenzen deutlich weniger weit im negativen Bereich, eine Verbesserung der Serumopsoninfunktion läßt sich hier somit nicht sicher nachweisen.

Im positiven Bereich hingegen lagen die Mittelwerte der Differenzen aus den Ansätzen in den Abbildungen 29 - 32 (Kontroll-PMN + Poolserum und Kontroll-PMN + Patientenserum nach 1h und 2h Inkubation), das heißt, hier resultierte aus dem Proopsoninzusatz zu Serum eher eine Verschlechterung der Serumopsoninfunktion, allerdings ergaben sich, wie oben schon erwähnt, auch hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fallzahlen n_1 und n_2 .

3.1.5 Opsonisierungspotenz von Proopsonin gegen die Teststaphylokokken, verglichen mit der von Poolserum. Zum Vergleich auch die Bakterizidiekapazität der Granulozyten ohne Opsoninzusatz. Siehe hierzu auch Tab. 3a .

Um eventuelle Unterschiede der Opsonisierungspotenz zwischen normalem menschlichem Serum (in Form von gepooltem Serum) und der Serumfraktion Proopsonin gegenüber den Teststaphylokokken aufzuzeigen, wurden bei den einzelnen Untersuchungen neben den übrigen Testansätzen auch die Ansätze Kontrollgranulozyten + Proopsonin und Patientengranulozyten + Proopsonin auf ihre Bakterizidie hin untersucht.

Das Poolserum weist in einer signifikanten Anzahl der untersuchten Fälle gegenüber den Teststaphylokokken eine wesentlich höhere Opsonisierungspotenz auf als Proopsonin: Lediglich in einem Fall war die Bakterizidierate sowohl der Kontrollgranulozyten als auch der Patientengranulozyten nach 1 h Inkubationszeit mit Proopsonin größer als mit Poolserum, bei einer Gesamtfallzahl von $N = 27$ für den Ansatz Kontrollgranulozyten + Proopsonin und $N = 33$ für den Ansatz Patientengranulozyten + Proopsonin.

In Tabelle 3a ist für die Versuchsansätze Kontroll-PMN + Poolserum, Kontroll-PMN + Proopsonin, Patienten-PMN + Proopsonin, sowie für die Ansätze Kontroll-PMN und Patienten-PMN ohne Opsoninzusatz jeweils der Median der Bakterizidieraten und der Vertrauensbereich des Medians für $p = 0.05$ angegeben. Aufgeführt sind in Tab. 3a auch die Minimal- und Maximalwerte.

Von den in Tab. 3a aufgeführten Ergebnissen läßt sich für Poolserum im Vergleich zu Proopsonin eine wesentlich stärkere Opsonisierungsfähigkeit gegen die Teststaphylokokken ablesen. Die Bakterizidieraten der Patienten- und der Kontroll-PMN liegen mit Proopsoninzusatz auf etwa gleichem Niveau mit denen der Ansätze Patienten-PMN bzw. Kontroll-PMN ohne Opsoninzusatz.

Bei der Testsubstanz Proopsonin konnten somit in den in vitro Versuchen keine wesentlichen opsonisierenden Aktivitäten gegen die Teststaphylokokken nachgewiesen werden.

Ansatz	Inkubationszeit	Fallzahl N	Median der Bakterizidieraten $\bar{x}$	Vertrauensbereich des Medians, $p = 0.05$ $x_h \geq \tilde{\mu} \geq x_{n-h+1}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$
Kontroll-PMN + Poolserum	1h	53	-87.7 %	$-84.8 \geq \tilde{\mu} \geq -89.5$	-97.2 %	-31.3 %
	2h	53	-94.2 %	$-91.8 \geq \tilde{\mu} \geq -94.9$	-99.1 %	-67.3 %
Kontroll-PMN + Proopsonin	1h	27	-13.0 %	$-4.6 \geq \tilde{\mu} \geq -26.1$	-50.3 %	+10.0 %
	2h	27	-22.4 %	$+5.5 \geq \tilde{\mu} \geq -38.2$	-58.1 %	+39.2 %
Patienten-PMN + Proopsonin	1h	33	-17.7 %	$+5.6 \geq \tilde{\mu} \geq -28.4$	-67.2 %	+61.7 %
	2h	33	-8.6 %	$+13.2 \geq \tilde{\mu} \geq -26.0$	-71.7 %	+86.2 %
Kontroll-PMN ohne Opsonine	1h	53	-10.9 %	$+3.4 \geq \tilde{\mu} \geq -21.8$	-54.5 %	+194.9 %
	2h	53	-16.3 %	$+2.4 \geq \tilde{\mu} \geq -27.2$	-85.3 %	+259.8 %
Patienten-PMN ohne Opsonine	1h	57	-14.2 %	$-1.2 \geq \tilde{\mu} \geq -26.7$	-57.8 %	+224.3 %
	2h	57	-6.6 %	$+36.8 \geq \tilde{\mu} \geq -14.3$	-68.1 %	+290.3 %

Tab. 30 : Opsonisierungspotenz von Poolserum und von Proopsonin, sowie Bakterizidiekapazität von Kontroll- und Patientengranulozyten ohne Opsoninzusatz. Tabellarisch aufgeführt jeweils Anzahl der untersuchten Fälle (N), der Median der Bakterizidieraten ($\bar{x}$) und dessen Vertrauensbereich bei $p = 0.05$, sowie die Minimal- und Maximalwerte der Bakterizidieraten ($x_{\min}$ und $x_{\max}$). - Der Unterschied zwischen den Medianwerten der Bakterizidieraten aus den Ansätzen Kontroll-PMN + Poolserum und den Ansätzen Kontroll-PMN bzw. Patienten-PMN + Proopsonin drückt die entsprechenden Unterschiede in den Opsonierungspotenzen aus. PMN = polymorphkernige neutrophile Granulozyten. - % = Bakterienzahlabnahme, + % = Bakterienzahlzunahme. Siehe auch im Text unter Punkt 3.1.5, Seite 97.

3.1.6 Einfluß des Proopsonins auf die Bakterizidiekapazität von Patientengranulozyten in Abhängigkeit von deren Funktionszustand (Siehe hierzu auch Abb. 33).

Hier sollte ein eventueller vermehrter bakterizidiefördernder Einfluß des Propsonins auf die Bakterizidiekapazität von Patientengranulozyten mit Funktionsdefekten nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden.

Zu diesem Zweck wurde der Funktionszustand der Patientengranulozyten (PMN-Abtötungsdefekt oder normale Abtötungsfunktion) einer Steigerung bzw. Reduzierung der Bakterizidieraten unter Proopsoninzusatz zu Serum gegenübergestellt. Die Einteilung in normale PMN-Funktion bzw. PMN-Funktionsdefekte erfolgte nach den Ergebnissen unter Punkt C. 1, Seite 27 ff. Die entsprechende Fallzahlverteilung wurde, getrennt nach dem verwendeten Serum und der Inkubationsdauer, jeweils in ein Vierfelderschema eingetragen, mittels des Chi-Quadrattests wurden die Werte auf Unabhängigkeit (Ho-Hypothese) überprüft, die Alternativhypothese (H_1) entspricht einer Inhomogenität der Fallzahlverteilung, d.h. es besteht eine Abhängigkeit zwischen den beiden Merkmalen (s.a. Ergebnisse in der Abb. 33).

Auswertung

Im Vierfelder - Chi-Quadrattest zeigte sich bei den Patientengranulozyten weder in Kombination mit Poolserum, noch mit Patientenserum bei 1 h und 2 h Inkubationszeit in einer signifikanten Anzahl der Fälle ($p = 0.10$) unter Proopsoninzusatz eine Steigerung der Bakterizidieraten, die Ho-Hypothese konnte beibehalten werden, es besteht keine signifikante Abhängigkeit zwischen den beiden Merkmalen. Es fällt jedoch auf, daß in allen vier Vierfelderschemata jeweils die Fallzahlen geringgradig überwiegen, in denen bei Vorliegen eines PMN-Abtötungsdefektes unter Proopsoninzusatz eine Bakterizidiesteigerung auftrat. Siehe hierzu auch Abb. 33, Seite 100.

Poolserum, 1h Inkubation

Bakterizidieraten
mit Proopsonin

	bes- ser	schlech- ter	
ja	12	3	15
nein	7	5	12
	19	8	27

$$\hat{\chi}^2 = 1.445 < \chi^2_{1;0.10} = 2.70$$

Ho-Hypothese wird beibehalten

Poolserum, 2h Inkubation

Bakterizidieraten
mit Proopsonin

	bes- ser	schlech- ter	
ja	10	5	15
nein	6	6	12
	16	11	27

$$\hat{\chi}^2 = 0.738 < \chi^2_{1;0.10} = 2.70$$

Ho-Hypothese wird beibehalten

Patientenserum, 1h Inkubation

Bakterizidieraten
mit Proopsonin

	bes- ser	schlech- ter	
ja	10	6	16
nein	6	6	12
	16	12	28

$$\hat{\chi}^2 = 0.659 < \chi^2_{1;0.10} = 2.70$$

Ho-Hypothese wird beibehalten

Patientenserum, 2h Inkubation

Bakterizidieraten
mit Proopsonin

	bes- ser	schlech- ter	
ja	9	7	16
nein	5	7	12
	14	14	28

$$\hat{\chi}^2 = 0.563 < \chi^2_{1;0.10} = 2.70$$

Ho-Hypothese wird beibehalten

Abb. 33 : Einfluß des Proopsonins auf die Bakterizidiekapazität von Patientengranulozyten in Abhängigkeit von deren Funktionszustand (Einteilung in normale PMN-Funktion bzw. PMN-Funktionsdefekte s.u. Punkt C. 1, Seite 27 ff). Darstellung der Fallzahlverteilung in einem Vierfelderschema, die Homogenität der Fallzahlverteilung wurde mittels des Chi-Quadrattests bei $p = 0.10$ beurteilt, die Ho-Hypothese wird beibehalten bei Unabhängigkeit beider Merkmale. Siehe hierzu auch im Text auf Seite 99, Punkt 3.1.6 . PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten.

3.2 In vivo Untersuchungen zur Frage des Proopsonineinflusses auf die Opsonisierungspotenz von Patientenseren.

Zehn Patienten mit verschiedenen Grunderkrankungen wurden parenteral mit Proopsonin behandelt. Das Proopsoninkonzentrat (Proteinkonzentration 12.5 g/100 ml) wurde hierzu nach Vorschrift des Herstellers 1 : 11.5 mit isotoner NaCl-Lösung verdünnt (Proteinkonzentration 1 g/100 ml) und den Patienten per infusionem verabreicht. Die Dosierung betrug bei jeder Infusionsbehandlung 100 - 150 mg Protein pro Kilogramm Körpergewicht.

Die Opsonisierungsfähigkeit des Serums wurde bei jeder Testperson kurz vor und vier Tage nach Proopsoningabe getestet. Von einigen Patienten wurden zusätzlich nach längeren Zeitabständen Serumproben gewonnen und auf ihre Opsonisierungspotenz hin untersucht.

4 Patienten wurde Proopsonin einmalig verabreicht, den übrigen 6 Patienten wurde Proopsonin wiederholt infundiert. Von den letztgenannten Patienten wurden die Seren tiefgefroren, um sie dann später zusammen in einem Test (mit ein und derselben Granulozytensuspension) zu untersuchen; auf diese Weise sollten eventuelle Granulozytenfunktionsschwankungen von Seiten des Leukozytenspenders im Test ausgeschlossen werden.

Wegen des zum Teil sehr hohen Antibiotikaspiegels in den zu untersuchenden Patientenseren wurden die Seren der betreffenden Patienten erst nach Ultrafiltration (Amicon PM 10 - Filter) untersucht, siehe hierzu die Beschreibung der Ultrafiltration auf Seite 22, Punkt B. 3.3.1 .

Eine Aussage über die Signifikanz der Unterschiede zwischen den zu vergleichenden Bakterizidieraten und somit den Opsonisierungspotenzen bei den Patienten mit weniger als vier Serumproben erhalten wir über den Vertrauensbereich des Medians der Bakterizidieraten aus den Versuchsansätzen Kontroll-PMN + Poolserum (siehe hierzu auf Seite 74, Punkt C. 2) .

Signifikante Unterschiede zwischen den Bakterizidieraten wurden angenommen bei Differenzwerten, welche über dem zweifachen Vertrauensbereich des Medians aus den Ansätzen Kontroll-PMN + Poolserum liegen, entsprechend dem vierfachen Standardfehler des Medians.

Ansatz	PMN	Serum	Phagozytose-Bakterizidie-Raten (%)				Patientennummer Dianose
			vor Proopsonin		4 Tage nach Proopsonin		
			1h	2h	1h	2h	
F	Kon	Pool	-84.8	-92.4	-89.6	-95.1	15 M.Down, atypische Pneumonie
G	Kon	Pat	-65.1	-96.9	-75.9	-95.1	
L	-	Pool	-	442.6	-	545.1	
M	-	Pat	-	-93.4	-	-59.1	
F	Kon	Pool	-84.0	-96.8	-83.8	-89.7	23 ALL, Fieber
G	Kon	Pat	-83.7	-97.2	-93.1	-94.3	
L	-	Pool	-	321.0	-	1084.2	
M	-	Pat	-	-82.1	-	195.8	
F	Kon	Pool	-95.6	-94.3	-88.2	-94.7	44 rez.Fu- runkul. B-Tha- lassä- mie
G	Kon	Pat	-75.2	-86.4	-81.1	-95.2	
L	-	Pool	-	391.8	-	277.4	
M	-	Pat	-	322.8	-	300.0	
F	Kon	Pool	-90.1	-95.1	-73.7	-98.2	46 rez. Staphy- lokokk. Hautabs- zesse
G	Kon	Pat	-88.3	-80.2	-63.4	-90.2	
L	-	Pool	-	322.5	-	350.0	
M	-	Pat	-	237.1	-	361.5	

Tab. 31 : Testergebnisse aus den in vivo Untersuchungen über die Opsonierungsaktivitäten von Patientenserum vor und nach parenteraler Zufuhr von Proopsonin. Hier die Bakterizidieraten der vier Patienten mit einmaliger Proopsoninverabreichung. Testbakterien waren auch hier Staphylokokkus aureus (S 10804). Die Patientennummern entsprechen denen in Abschnitt C. 1 . PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten, Kon = Kontroll-PMN, Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum. - % = Bakterienzahlabnahme, + % = Bakterienzahlzunahme.

Vertrauensbereich des Medians aus den Werten nach 1 h Inkubation:

$-84.8 \% \geq \tilde{\mu} \geq -89.5 \%$, dies entspricht einem 4s - Bereich von 9.4 %, $p = 0.05$.

Vertrauensbereich des Medians aus den Werten nach 2 h Inkubation:

$-91.8 \% \geq \tilde{\mu} \geq -94.9 \%$, dies entspricht einem 4s - Bereich von 6.2 %, $p = 0.05$.

Bei den Patienten mit mehr als 3 Serumproben wurde, zum Nachweis einer steigenden bzw. fallenden Tendenz der Opsonisierungspotenzen in den gewonnenen Patientenserum nach Proopsonintherapie, der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient bestimmt. Die Signifikanzschranken werden einer Tabelle entnommen.

3.2.1 Patienten mit einmaliger parenteraler Proopsoninmedikation (siehe Tabelle 31)

Zur Bewertung der Opsonisierungspotenz von Seren nach parenteraler Proopsoninverabreichung wurden jeweils die Phagozytose-Bakterizidie-Raten verglichen, welche durch die Kontroll-PMN in Kombination mit Patientenserum vor Proopsoningabe und mit Patientenserum nach Proopsoningabe erzielt wurden.

Nach 1 h Inkubationszeit waren bei 2 der 4 untersuchten Patienten (Patient 15 und 23, siehe Tab. 31) die Bakterizidieraten der Kontroll-PMN mit Patientenserum, welches 4 Tage nach parenteraler Proopsoninzufuhr gewonnen wurde, in signifikanter Weise höher als mit Serum, welches vor Proopsoningabe untersucht wurde, d.h., die Opsonisierungsfähigkeit des Serums war in diesen Fällen nach Proopsonintherapie besser.

Bei Patient 46 ist nach 1 h Inkubation die Bakterizidierate der Kontroll-PMN sowohl mit Poolserum, als auch mit Patientenserum bei der zweiten Untersuchung (4 Tage nach Proopsonintherapie) signifikant niedriger als bei der Erstuntersuchung, der Abfall der Bakterizidierate dürfte somit seine

Ursache in einer leichten Granulozytenfunktionsschwäche haben, weniger in einer reduzierten Opsonisierungsfähigkeit des Patientenserums nach Proopsonintherapie.

Bei Patient 44 ist nach 1 h Inkubation die Steigerung der Opsoninwirkung im Serum nach Proopsonintherapie kleiner als der 4s - Bereich und somit nicht signifikant.

Nach 2 h Inkubation war bei den Patienten 44 und 46 nach Proopsonintherapie eine signifikante Steigerung der Bakterizidieraten und somit eine Steigerung der Opsonisierungspotenzen zu verzeichnen (s. Tab. 31).

Bei Patient 23 ist bei der Untersuchung vor Proopsoninzufuhr im Serum eine starke, durch Antibiotika bewirkte, bakterizide Wirkung gegenüber den Teststaphylokokken nachweisbar (siehe Ansatz M in Tab. 31). Nach den Ausführungen auf den Seiten 22 - 23, Punkt B. 3.2.2 kann die tatsächliche Bakterizidierate der Kontroll-PMN mit Patientenserum (Ansatz G) und somit dessen Opsonisierungspotenz nach folgender Formel geschätzt werden:

$$\frac{G - M}{-100 - M} = \frac{(-97.2) - (-82.1)}{(-100) - (-82.1)} = -84.4 \%$$

Die Buchstaben in der Formel bezeichnen die Ansätze in Tabelle 31 .

Im Vergleich zu der Bakterizidierate der Kontroll-PMN mit Patientenserum, welches 4 Tage nach Proopsoningabe gewonnen wurde, ist somit auch bei Patient 23 eine signifikante Steigerung der Bakterizidierate und somit eine Zunahme der Opsonisierungspotenz von Patientenserum nach parenteraler Proopsoninzufuhr anzunehmen.

Bei Patient 15 stört ebenfalls ein im Serum enthaltenes, auf die Testbakterien bakterizid wirkendes Antibiotikum die übliche Bewertung der Ergebnisse. Mit oben erwähneter Methode (siehe wiederum Seite 22 - 23, Punkt B. 3.2.2) kann aber auch hier die tatsächliche Bakterizidierate der Kontroll-PMN mit den verschiedenen Seren und somit deren Opsonisierungsaktivität geschätzt werden:

$$\text{Ansatz G, vor Proopsonin, 2 h Inkubation: } \frac{(-96.9) - (-93.4)}{(-100) - (-93.4)} = -53.0 \%$$

$$\text{Ansatz G, nach Proopsonin, 2 h Inkubation: } \frac{(-95.1) - (-59.1)}{(-100) - (-59.1)} = -88.0 \%$$

Aufgrund dieses Ergebnisses ist auch bei Patient 15 eine signifikante Steigerung der Bakterizidierate der Kontroll-PMN mit Serum nach Proopsonintherapie und somit eine Steigerung der Opsonisierungsaktivität anzunehmen.

Über die Untersuchungsergebnisse bei den genannten 4 Patienten mit einmaliger Proopsonininfusion kann zusammenfassend folgende Feststellung getroffen werden:

Nach 1 h Inkubationszeit ist bei zwei der vier untersuchten Patienten eine signifikante Steigerung der Opsonisierungsfähigkeit des Serums nach Proopsonintherapie nachweisbar; bei einem Patienten war die Steigerung der Opsoninwirkung im Serum nach Proopsonintherapie kleiner als der 4s-Bereich, in einem Fall war ein signifikanter Abfall der Opsonisierungsfähigkeit des Serums nach Proopsoninzufuhr zu verzeichnen.

Nach 2 h Inkubationszeit ist bei den 2 Patienten ohne Antibiotika im Serum ebenfalls eine signifikant gesteigerte Opsonisierungsfähigkeit der Patientenserum nach Proopsonininfusion zu verzeichnen, auch bei den übrigen 2 Patienten ist eine signifikante Steigerung der Opsonisierungspotenzen der Patientenserum anzunehmen, berücksichtigt man bei der Auswertung, wie auf den Seiten 104 und 105 angeführt, die Bakterizidie durch die in den Seren enthaltenen Antibiotika.

3.2.2 Patienten mit wiederholter parenteraler Proopsoninzufuhr

Den hier aufgeführten 6 Patienten wurde Proopsonin wiederholt, meist in wöchentlichen Zeitabständen infundiert; vor Proopsoninzufuhr und jeweils 4 Tage danach wurde Serum gewonnen und bei -30°C tiefgefroren, um später in einem Untersuchungsgang auf seine Opsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken untersucht zu werden.

Wegen der teils hohen Antibiotikaspiegel in vielen Patientenseren mit bakterizider Wirkung gegen die Teststaphylokokken wurden die Seren der betreffenden Patienten nach der auf Seite 22 unter Punkt B. 3.3.1 beschriebenen Methode über Amikon PM 10 - Filter ultrafiltriert, um die Antibiotika auszuwaschen; das verwendete Poolserum wurde ebenso vorbehandelt, um die Opsonisierungsaktivitäten vergleichen zu können.

Patientin (25) mit akuter lymphoblastischer Leukämie und Pneumocystis carinii Pneumonie.

Die Patientin wurde dreimal mit Proopsonininfusionen behandelt; die Dosis betrug jeweils 140 mg/kg Körpergewicht. Die Patientin verstarb am 23.5.76

Datum der Proopsoningaben: 5.5.76, 9.5.76, (12.5.76),

Wegen hohem Antibiotikagehalt wurde mit ultrafiltriertem Serum gearbeitet.

Untersuchungsdatum			vor Proopsonin 05.05.76		nach Proopsonin 11.05.76	
Ansatz	PMN	Serum	1h	2h	1h	2h
F	Kon	Pool	-88.8	-90.8		
G	Kon	Pat	-90.9	-97.9	-85.5	-93.5
L	-	Pool	+44.7	+74.5		
M	-	Pat	+15.7	+28.2	+24.7	+ 4.2

Tab. 32 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patient 25. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten, Kon = Kontroll-PMN, Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum.

Beurteilung

Im Serum der Patientin zeigt sich sechs Tage nach der ersten und zwei Tage nach der zweiten Proopsonininfusion eine schlechtere Funktion der opsonisierenden Bestandteile als vor Proopsoninzufuhr. Die Unterschiede zwischen den Phagozytose-Bakterizidie-Raten liegen jedoch noch im 4s - Bereich (s. S. 101 und 103) und sind somit nicht signifikant. Die Ergebnisse werden jedoch wohl auch beeinflusst von dem zunehmend sich verschlechternden klinischen Allgemeinzustand der Patientin.

Patientin (28) mit akuter lymphoblastischer Leukämie und Sepsis

Die Patientin wurde zweimal parenteral mit Proopsonin behandelt. Die Dosis betrug jeweils 150 mg/kg Körpergewicht.

Datum der Proopsoningaben: 21.05. und 26.05.76

Auch hier wegen hohem Antibiotikaspiegel im Serum Verwendung von ultrafiltriertem Patientenserum.

Untersuchungsdatum			vor Proopsonin 21.05.76		nach Proopsonin 26.05.76		28.05.76	
Ansatz	PMN	Serum	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F	Kon	Pool	-88.8	-90.8				
G	Kon	Pat	-72.0	-94.4	-92.9	-97.9	-95.8	-96.9
L	-	Pool	+44.7	+74.5				
M	-	Pat	-13.6	- 4.5	+40.9	+45.5	+15.8	+54.4

Tab. 33 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patient 28. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten, Kon = Kontroll-PMN, Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum.

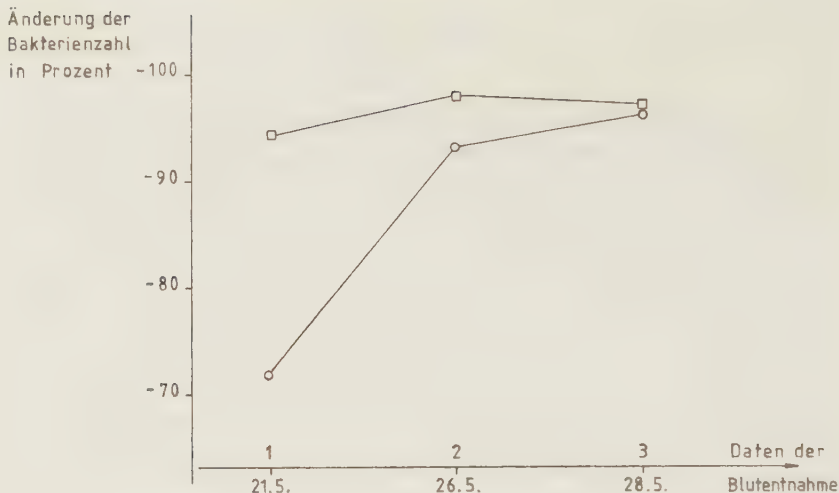


Abb. 34 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach Proopsonintherapie bei Patientin 28. Änderung der Bakterienanzahl in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. ○ = Ergebnisse aus Ansatz G, 1h Inkubation; □ = Ergebnisse aus Ansatz G, 2h Inkubation. Siehe auch auf den Seiten 107 und 108, Text und Tabelle 33.

Beurteilung

Bei 1h Inkubation ist die Serumopsoninaktivität nach Proopsonintherapie in beiden Seren (s.Tab. 33) um mehr als den 4s-Bereich (s.S. 101-103) höher als vor Proopsoningabe, hier liegt somit eine signifikante Steigerung der Serumopsoninaktivitäten vor.

Auch bei 2h Inkubation ist in beiden, nach Proopsoninzufuhr gewonnenen Seren die Opsonisierungsaktivität höher als vor Proopsonintherapie; die Unterschiede liegen jedoch noch im 4s-Bereich, eine signifikante Steigerung kann somit definitionsgemäß nicht verifiziert werden. Bei einer gemessenen Bakterizidierate von -94.4% ist eine Steigerung um den 4s-Bereich (6.1%) auch nicht möglich, dies entspräche einer Abtötungsrate von -100.5%; da in beiden Untersuchungen nach Proopsonintherapie eine höhere Opsonisierungspotenz festzustellen ist, nehmen wir auch hier ein signifikantes Ergebnis an.

Patientin (36), 50 % Verbrühungen Grad II-III (s.a. Tab. 34 und Abb. 35)

Die Patientin wurde wöchentlich parenteral mit einer Proopsonindosis von 160 mg/kg Körpergewicht behandelt.

Datum der Proopsoningaben: 19.03., 26.03., 02.04., . . .

Bei Patientin 36 war vor Proopsoninzufuhr nur eine unbedeutende, gegen die Teststaphylokokken wirksame Antibiotikamenge im Serum nachweisbar; in den nach Proopsonintherapie gewonnenen Seren war keine gegen die Teststaphylokokken gerichtete antibiotische Aktivität festzustellen (siehe Testansatz M in Tabelle 34), hier wurde deshalb auf eine Ultrafiltration der Seren verzichtet.

US - Datum			vor 19.03.		nach Proopsonintherapie					
					23.03.		30.03.		05.04.	
Ansatz	PMN	Serum	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F	Kon	Pool	-94.0	-94.7	-88.2	-94.7	-92.4	-96.2	-87.2	-84.0
G	Kon	Pat	-94.8	-95.2	-91.5	-95.3	-97.9	-98.6	-97.3	-96.4
L	-	Pool	-	380.0	-	277.0	-	412.8	-	493.2
M	-	Pat	-	3.9	-	151.5	-	227.7	-	263.3

Tab. 34 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patient 36. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. US - Datum = Untersuchungsdatum, PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten, Kon = Kontroll-PMN, Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum.

Beurteilung

Zur Klärung der Frage, ob nach Proopsoninzufuhr eine steigende oder fallende Tendenz der Serumopsoninaktivitäten vorliegt, wurde der Spearman'sche Rang-Korrelationskoeffizient (r_s) bestimmt; r_s dient definitionsgemäß auch als Bestimmtheitsmaß und somit zur Klärung der Frage, ob zwischen den Zeitpunkten der Serumgewinnung und einer Zu- bzw. Abnahme der Serumopsoninaktivität ein signifikanter Zusammenhang besteht. Der Spearman'sche Rang-Korrelationskoeffizient errechnet sich aus $r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)}$.

Für Bestimmung von D transformiert man beide Zahlenreihen (Reihe 1: Bakterizidieraten, Reihe 2: Reihenfolge der Serumgewinnung) durch Zuordnung von Rangzahlen in Rangreihen und bildet die Differenz D der jeweiligen Rangpaare:

1h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	2	1	4	3	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	
Rangdifferenzen D	1	-1	1	-1	$\sum D = 0$
D ²	1	1	1	1	$\sum D^2 = 4$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 4}{60} = 0.6 < 0.8 = r_s^+, p = 0.05. \text{ einseitig}$$

r_s^+ = Signifikanzschranke des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten

r_s nimmt einen positiven Wert an, d. h. die Serumopsoninaktivität zeigt bei 1h Inkubation nach Proopsonintherapie eine steigende Tendenz, wenn gleich hier kein signifikanter Zusammenhang zwischen Proopsonintherapie und Steigerung der Serumopsoninwirkung nachweisbar ist ($r_s < r_s^+$).

2h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	1	2	4	3	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	
Rangdifferenzen D	0	0	1	-1	$\sum D = 0$
D ²	0	0	1	1	$\sum D^2 = 2$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 2}{60} = 0.8 = 0.8 = r_s^+, p = 0.05. \text{ einseitig}$$

r_s ist auch bei 2h Inkubation positiv, somit zeigt die Serumopsoninaktivität auch hier nach Proopsonintherapie eine steigende Tendenz; r_s erreicht die Signifikanzschranken r_s^+ bei einseitiger Fragestellung, $p = 0.05$, es besteht somit ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Steigerung der Serumopsoninwirkung und der Reihenfolge der Serumgewinnung nach Proopsoninzufuhr.

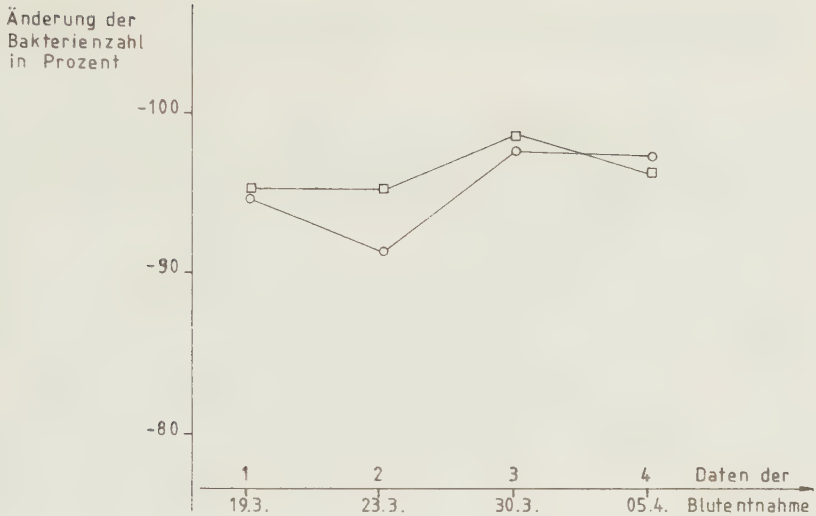


Abb. 35 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumpopsoninaktivität vor und nach Proopsonintherapie bei Patientin 36. Änderung der Bakterienanzahl in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. o = Ergebnisse aus Ansatz G, 1h Inkubation; □ = Ergebnisse aus Ansatz G, 2h Inkubation. Siehe auch im Text und in Tabelle 34 auf den Seiten 109 und 110 .

US	vor		nach Proopsonintherapie									
	11.05.		18.05.		21.05.		25.05.		09.06.		06.07.	
	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F	-76.8	-80.7										
G	-80.1	-93.1	-90.6	-88.1	-86.9	-85.0	-94.4	-92.2	-86.5	-86.1	-83.3	-95.4
L	- 1.5	- 9.6										
M	-32.8	-37.6	- 7.6	+10.0	- 4.6	-24.6	- 4.4	+ 3.9	+ 1.5	+44.9	+34.4	+73.4

Tab. 35 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumpopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patient 29. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. US = Untersuchungsdatum. Ansatz F = Kontroll-PMN + Poolserum, Ansatz G = Kontroll-PMN + Patientenserum, Ansatz L = Poolserum ohne PMN, Ansatz M = Patientenserum ohne PMN. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. Siehe auch Text und Abb. 36 auf den Seiten 112 und 113.

Patient (29), akute myeloblastische Leukämie, Pneumonie (s.a. Tab. 35 und Abb. 36).

Der Patient wurde dreimal parenteral mit Proopsonin behandelt; die Dosis betrug jeweils 100 mg Protein/kg Körpergewicht.

Datum der Proopsoningaben: 14.05.76, 18.05.76 und 15.06.76

Da im Überwiegenden Teil der gewonnenen Seren des Patienten relativ hohe Antibiotikaspiegel mit bakterizider Wirkung gegen die Teststaphylokokken nachweisbar waren, wurde ausschließlich mit ultrafiltrierten Seren (s.S. 22, Punkt 8. 3.3.1) gearbeitet. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 35 aufgeführt (s.S. 111), in Abbildung 36 graphische Darstellung der Phagozytose-Bakterizidie-Raten.

Beurteilung

Auch hier Bestimmung des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten r_s zur Klärung der Frage einer steigenden bzw. fallenden Tendenz der Serumopsoninwirkung während der Proopsonintherapie und einer signifikanten Abhängigkeit zwischen Proopsoninzufuhr und Änderung der Serumopsoninaktivität (Ausführliche Darstellung der Beurteilung mittels des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten siehe auf den Seiten 109 und 110).

1 h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	1	5	4	6	3	2	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	5	6	
Rangdifferenzen D	0	3	1	2	-2	-4	$\sum D = 0$
D^2	0	9	1	4	4	16	$\sum D^2 = 34$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 34}{210} = 0.03 < 0.6 = r_s^+, p = 0.10 \text{ einseitig}$$

r_s^+ = Signifikanzschranke des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten

r_s nimmt bei 1 h Inkubation zwar einen positiven Wert an und deutet somit eine steigende Tendenz der Serumopsoninaktivität unter der Proopsonintherapie an, r_s liegt jedoch mit 0.03 bei einseitiger Fragestellung weit unterhalb der Signifikanzschranke r_s^+ , d.h., es besteht keine Abhängigkeit

zwischen der Proopsoninzufuhr und der Änderung der Serumopsoninaktivität.

2 h Inkubation :

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	5	3	1	4	2	6	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	5	6	
Rangdifferenzen D	4	1	-2	0	-3	0	$\sum D = 0$
D^2	16	1	4	0	9	0	$\sum D^2 = 30$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 30}{210} = 0.14 < 0.60 = r_s^+, p = 0.10 \text{ einseitig}$$

Auch bei 2 h Inkubation ist r_s kleiner als r_s^+ , d.h. es besteht keine signifikante Abhängigkeit zwischen der Proopsoninzufuhr und der Serumopsoninaktivität, obgleich auch hier der positive Wert von r_s eine eher steigende Tendenz der Opsonisierungspotenz des Patientenserums anzeigt.

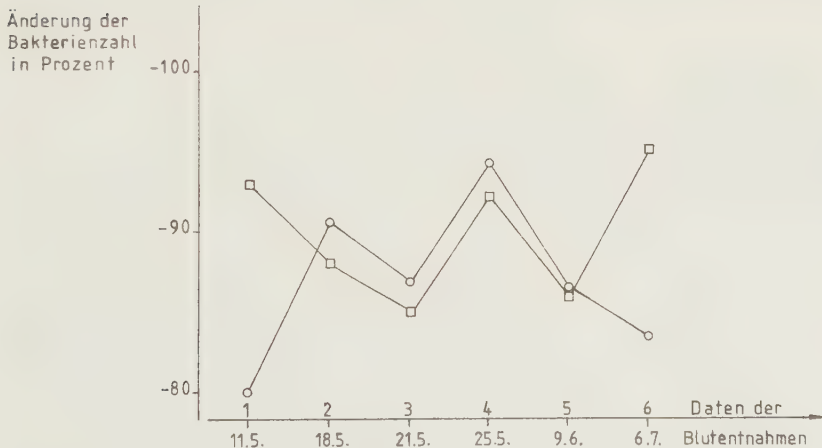


Abb. 36 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach Proopsonintherapie bei Patient 29. Änderung der Bakterienzahl in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. o = Ergebnisse aus Ansatz G, 1h Inkubation; □ = Ergebnisse aus Ansatz G, 2h Inkubation. Siehe auch den Text und Tabelle 35 auf den Seiten 111 bis 113.

Patient (27), akute lymphatische Leukämie, *Pneumocystis carinii* Pneumonie
(s.a. Tab. 36 und Abb. 37, Seite 115)

Dieser Patient wurde zweimalig mit Proopsonin parenteral behandelt. Die Dosierung betrug jeweils 140 mg Protein/kg Körpergewicht.

Datum der Proopsoningaben: 13.05.76 , 17.05.76

Die Untersuchung erfolgte mit ultrafiltrierten Seren (s.S. 22, Punkt B. 3.3.1) wegen erheblicher Antibiotikaspiegel mit bakterizider Wirkung gegen die Teststaphylokokken. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 36 aufgeführt, in Abbildung 37 graphische Darstellung der Phagozytose-Bakterizidie-Raten.

Beurteilung

Zur Auswertung der Ergebnisse über die Beeinflussung der Serumopsoninaktivität durch parenterale Proopsonintherapie wiederum Bestimmung des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten r_s .

1 h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	3	4	2	1	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	
Rangdifferenzen D	2	2	-1	-3	$\sum D = 0$
D^2	4	4	1	9	$\sum D^2 = 18$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 18}{60} = -0.80 = -0.80 = r_s^+, p = 0.05 \text{ einseitig}$$

r_s^+ = Signifikanzschranke des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten

r_s nimmt einen negativen Wert an, d.h., die Serumopsoninaktivität weist bei 1 h Inkubation eine fallende Tendenz auf; es besteht eine signifikante (formale) Korrelation ($r_s = r_s^+$) zwischen der Reihenfolge der Serumproben-
gewinnung während Proopsonintherapie und dem Abfall der Serumopsoninaktivität.

			vor		nach Proopsonintherapie					
US - Datum			13.05.		17.05.		21.05.		28.05.	
Ansatz	PMN	Serum	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F	Kon	Pool	-81.3	-87.9						
G	Kon	Pat	-88.7	-96.5	-91.7	-96.5	-87.4	-90.9	-44.9	-62.3
L	-	Pool	+90.5	+74.6						
M	-	Pat	+80.4	+55.0	+33.3	+26.6	+53.1	+19.6	-25.9	- 9.5

Tab. 36 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patient 27. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. US - Datum = Untersuchungsdatum, PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten, Kon = Kontroll-PMN, Pool = Poolserum, Pat = Patientenserum. Siehe auch den Text auf den Seiten 114 und 116.

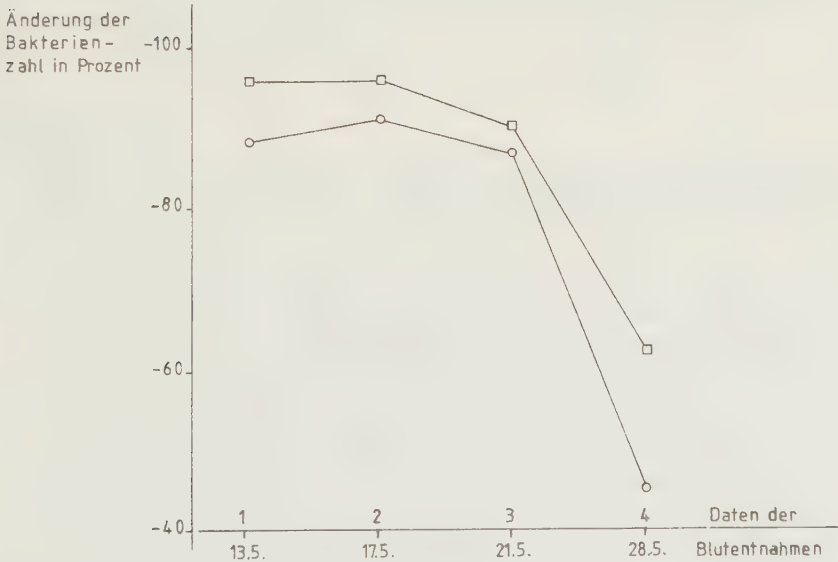


Abb. 37 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach Proopsonintherapie bei Patient 27. Änderung der Bakterienanzahl in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. o = Ergebnisse aus Ansatz G, 1h Inkubation; □ = Ergebnisse aus Ansatz G, 2h Inkubation. Siehe den Text und Tabelle 36 auf den Seiten 114 bis 116.

2 h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	4	3	2	1	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	
Rangdifferenzen D	3	1	-1	-3	$\sum D = 0$
D^2	9	1	1	9	$\sum D^2 = 20$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 20}{60} = |-1| > |-0.80| = r_s^+, p = 0.05 \text{ einseitig}$$

Auch bei 2 h Inkubation ergibt sich ein negativer Wert für r_s als Hinweis für eine fallende Tendenz der Serumopsoninaktivität unter Proopsonintherapie; auch hier besteht eine signifikante (formale) Korrelation ($|r_s| > r_s^+$) zwischen der Reihenfolge der Serumprobengewinnung und dem Anfall der Serumopsoninaktivität.

Patient (26), akute lymphatische Leukämie, bakterielle Sepsis mit gram-negativen Keimen (s.a. Tab. 37 und Abb. 38, Seite 117)

Die Patientin wurde dreimal mit Proopsonininfusionen behandelt. Die Dosis betrug jeweils 155 mg Protein/kg Körpergewicht.

Datum der Proopsoningaben: 12.05.76, 15.05.76, 18.05.76

Die Untersuchung erfolgte mit ultrafiltrierten Seren wegen teils erheblicher Antibiotikaspiegel mit bakterizider Wirkung gegen die Teststaphylokokken. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 37 aufgeführt, graphische Darstellung der Phagozytose-Bakterizidie-Raten in Abb. 38.

Beurteilung

Wiederum Bestimmung des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten r_s zur Auswertung der Ergebnisse über die Beeinflussung der Serumopsoninaktivität durch parenterale Proopsonintherapie.

		vor		nach Proopsoningabe									
		vor Frischblut		nach Frischblut									
US		11.05.		12.05.		15.05.		17.05.		21.05.		26.05.	
An- satz		1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h	1h	2h
F		-74.8	-75.2										
G		-79.6	-84.2	-89.5	-91.5	-76.0	-82.7	-91.7	-91.3	-79.5	-84.8	-94.6	-87.9
L		+ 1.7	+22.2										
M		- 7.1	-25.7	+33.1	+38.6	+28.0	+56.5	+34.5	+44.7	+ 0.4	+28.2	+60.2	+32.0

Tab. 37 : Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach parenteraler Proopsoninzufuhr bei Patientin 26. Bakterienzahländerung in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. US = Untersuchungsdatum. Ansatz F = Kontroll-PMN + Poolserum, Ansatz G = Kontroll-PMN + Patientenserum, Ansatz L = Poolserum ohne PMN, Ansatz M = Patientenserum ohne PMN. PMN = segmentkernige neutrophile Granulozyten. Siehe auch Text und Abbildung 38 auf den Seiten 116 bis 118.

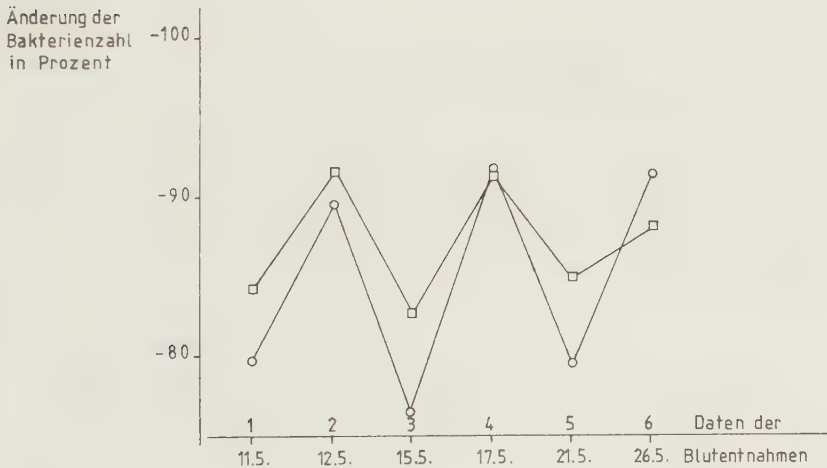


Abb. 38 : Graphische Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen über die Serumopsoninaktivität vor und nach Proopsonintherapie bei Patient 26. Änderung der Bakterienanzahl in Prozent; + % = Zunahme, - % = Abnahme. o = Ergebnisse aus Ansatz G, 1h Inkubation; □ = Ergebnisse aus Ansatz G, 2h Inkubation. Siehe auch den Text und Tabelle 37 auf den Seiten 116 bis 118.

1 h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	3	4	1	5	2	6	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	5	6	
Rangdifferenzen D	2	2	-2	1	-3	0	$\sum D = 0$
D^2	4	4	4	1	9	0	$\sum D^2 = 22$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 22}{210} = 0.37 < 0.60 = r_s^+, p = 0.10, \text{ einseitig}$$

r_s^+ = Signifikanzschranke des Spearmanschen Rang-Korrelationskoeffizienten

r_s weist bei 1 h Inkubation einen positiven Wert auf und deutet somit eine steigende Tendenz der Serumopsoninaktivität unter parenteraler Proopsonintherapie an, r_s liegt jedoch mit 0.37 unter der Signifikanzschranke r_s^+ ($p = 0.10$, einseitige Betrachtungsweise), es besteht keine Abhängigkeit zwischen der Proopsoninzufuhr und der Änderung der Serumopsoninaktivität.

2 h Inkubation:

Bakterizidieraten, als Rangzahlen geordnet	2	6	1	5	3	4	
Reihenfolge der Serumgewinnung	1	2	3	4	5	6	
Rangdifferenzen D	1	4	-2	1	-2	-2	$\sum D = 0$
D^2	1	16	4	1	4	4	$\sum D^2 = 30$

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum D^2}{n(n^2 - 1)} = 1 - \frac{6 \times 30}{210} = 0.14 < 0.60 = r_s^+, p = 0.10, \text{ einseitig}$$

r_s nimmt auch bei 2 h Inkubation einen positiven Wert an als Hinweis einer eher steigenden Tendenz der Serumopsoninaktivität unter Proopsoninzufuhr, mit $r_s = 0.14$ liegt dieser Wert jedoch ebenfalls weit unterhalb der Signifikanzschranke r_s^+ ($p = 0.10$, einseitige Betrachtungsweise), somit besteht auch hier Unabhängigkeit zwischen der Proopsoninzufuhr und der Änderung der Serumopsoninaktivität.

Fallzahlen in den Ansätzen	Serumopsoninaktivität nach Proopsoninzufuhr			
	Zunahme signifikant	nicht signifikant	Abnahme signifikant	nicht signifikant
1h Inkubation, ein- malige Proopsonin- zufuhr	2	1	1	0
1h Inkubation, wie- derholte Proopsonin- zufuhr	1	3	1	1
Gesamt	3	4	2	1
2h Inkubation, ein- malige Proopsonin- zufuhr	4	0	0	0
2h Inkubation, wie- derholte Proopsonin- zufuhr	2	2	1	1
Gesamt	6	2	1	1

Tab. 38 : Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse über die Beeinflussung der Serumopsoninaktivität durch parenterale Proopsoninzufuhr. Aufgeführt sind die Fallzahlen bei 1h und 2h Inkubation, die Häufigkeitsverteilung der Fallzahlen erfolgte nach den Kriterien - signifikante und nicht signifikante Zunahme bzw. signifikante und nicht signifikante Abnahme der Serumopsoninaktivität nach Proopsonintherapie. Die Ergebnisse sind auf den Seiten 101 bis 118 näher erläutert.

D. DISKUSSION

1. Einführung

Bakterielle und mykotische Infektionen stellen auch heute noch oft, trotz großer Fortschritte in der Neu- bzw. Weiterentwicklung von Breitspektrum-Antibiotika und Antimykotika, lebensbedrohende Erkrankungen dar. Eine bedeutende Rolle beim Angehen von Infektionen in der Klinik spielen Hospitalkeime, bei denen durch den heute üblichen breiten Einsatz von Antibiotika die Resistenzentwicklung gefördert wird.

Einer besonders starken Infektionsgefährdung unterliegen Patienten mit geschwächter körpereigener Abwehr. Primäre Störungen in der Immunabwehr an den verschiedenen Stellen der Abwehrmechanismen sind bekannt, als Beispiele seien genannt Hypo- und Agammaglobulinämien, Defekte in der Komplementkaskade, sowie Störungen sowohl in den für die Immunisierung bedeutungsvollen B- und T-Lymphozyten, als auch in den als Phagozyten wirkenden segmentkernigen neutrophilen Granulozyten, Monozyten und den Zellen des RES und RMS.

Von weit größerer klinischer und praktischer Bedeutung sind sekundär ausgelöste Störungen der körpereigenen Infektionsabwehr. Hier seien herausgegriffen hämatologische Erkrankungen mit den verschiedenen Leukämieformen, Tumorpatienten während bzw. nach zytostatischer Therapie und Radiotherapie, aber auch Patienten mit schweren Infektionen bzw. Patienten mit großflächigen Wunden wie z.B. Verbrennungspatienten mit der damit gegebenen Gefahr einer massiven Erregerinvasion in das Gewebe und dem Verbrauch an körpereigenen Abwehrfaktoren sowie einer Toxinbelastung des Organismus.

Mit unseren Untersuchungen mittels des Phagozytose-Bakterizidie-Tests bei Patienten mit primären oder sekundären Immundefizienzen, sowie bei Patienten mit rezidivierenden oder retardiert verlaufenden Infektionen versuchten wir, eventuell vorliegende zelluläre oder humorale Abwehrschwächen nachzuweisen. Ferner wurde untersucht, ob ein opsoninhaltes, hauptsächlich aus Immunglobulinen bestehendes Serumpräparat, Proopsonin, die gegen die Teststaphylokokken gerichtete Serumopsoninaktivität von Patientenserum und von Poolserum steigern kann.

2. Bedeutung spezifischer Immunglobuline und thermolabiler Serums-substanzen in der Abwehr bakterieller Infektionen

Zunächst wurden zwei, für die Serumopsoninwirkung bedeutsame Serumproteingruppen, die spezifischen Immunglobuline und die Komplementfaktoren, in dem Serum einer gesunden Testperson selektiv inaktiviert; anschließend wurden die auf diese Weise vorbehandelten Seren auf ihre Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken getestet, siehe hierzu die Ergebnisse auf den Seiten 79 - 82 in Abschnitt C, Punkt 3.1.2, sowie Tabelle 28 und Abbildung 20.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, daß Serum, aus welchem die gegen die Teststaphylokokken gerichteten spezifischen Immunglobuline absorbiert wurden, noch eine relativ hohe opsonisierende Aktivität gegen diese Staphylokokken aufwies.

Wurde das verwendete Serum dagegen über 30 Minuten auf 56° C erhitzt und somit die thermolabilen Stoffgruppen des Serums, insbesondere die Komplementfaktoren, inaktiviert (Dekomplementierung), so kommt es zu einem erheblichen Abfall der Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken. Absorbiertes Serum, welches zusätzlich dekomplementiert wurde, liegt mit seiner Opsonisierungspotenz noch niedriger, als nur dekomplementiertes Serum.

Filtrierte Serum (durch ein PM 10 - Amiconfilter abgepresster Teil des Serums) weist eine ähnlich niedrige Serumopsoninaktivität auf, wie Serum, aus welchem die spezifischen Antikörper gegen die Teststaphylokokken absorbiert und zusätzlich dekomplementiert wurde.

Aus diesen Ergebnissen kann gefolgert werden, daß zur Opsonisierung des im Test verwendeten Staphylokokkus aureus thermostabile Serumbestandteile (IgG, IgM u.a.) nur in geringem Maße beitragen. Dagegen beinhalten die thermolabilen Stoffgruppen des Serums, von denen hauptsächlich den Komplementfaktoren eine opsonisierende Wirkung zugeschrieben wird, den Großteil der Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken.

Außerdem ließ sich zeigen, daß kleinmolekulare Serumbestandteile (kleiner als MG 10 000) keine wesentlichen opsonisierenden Aktivitäten gegen die Teststaphylokokken besitzen, was bedeutet, daß sich die thermolabile Stoffgruppe mit hoher Opsonisierungspotenz aus Molekülen zusammensetzt, welche ein Molekulargewicht von mehr als 10 000 aufweisen. Die Molekulargewichte der Komplementfaktoren liegen zwischen 79 000 und 400 000, sie sind somit

bei Verwendung des Amicon PM 10 - Filters nicht filtergängig (s.a. Tab. 39).

Die Komplementfaktoren sind an verschiedenen Stufen der körpereigenen Abwehr gegen Fremdorganismen beteiligt:

Am bekanntesten ist die zytolytische Wirkung des Komplementkomplexes C5 - C9, dessen Aktivität in vitro in der flüssigen Phase weitgehend verlorengeht (196).

Von noch größerer Bedeutung ist die biologische Aktivität, die durch die Interaktion von Komplementfaktoren mit den entsprechenden zellständigen Rezeptoren verschiedener Körperzellen initiiert wird. Eine kleine Gruppe von aktivierten Serumkomplementfaktoren löst somit die verschiedensten, der jeweiligen Zellart physiologischer Weise angeborenen, zellulären Funktionen aus (135, 196).

So stellen die Komplementspaltprodukte C3a und C5a Anaphylatoxine dar, die eine Histaminausschüttung aus Leukozyten, Mastzellen und Thrombozyten verursachen. Histamin bedingt seinerseits eine Kontraktion der glatten Muskulatur und beeinflusst somit die Rheologie im Kapillargebiet, verstärkt die Permeabilität der Kapillarwände und ermöglicht hiermit weiteren Komplementfaktoren und Immunglobulinen, aber auch Abwehrzellen den Übertritt in das interstitielle Gewebe, in welchem gerade Immunreaktionen ablaufen. Der Effekt auf Thrombozyten bewirkt eine Thrombozytenaggregation und intravasale Gerinnung (109, 118, 192, 196).

C2b, eine kininähnliche Substanz, welche bei der Einwirkung von C1s auf C2 entsteht, verursacht eine direkte Erhöhung der vaskulären Permeabilität in der Endstrombahn (108, 189).

C3a und C5a, sowie der C567 - Komplex sind chemotaktisch wirksam und bedingen eine Ansammlung von Abwehrzellen an der Stelle der Immunreaktion (196).

Ein C3 - Fragment bewirkt ferner die Mobilisierung von Leukozyten aus dem Knochenmark (170).

Der Komplementfaktor C3 spielt eine zentrale Rolle sowohl in der Komplementaktivierung, als auch in der Opsonisierung und Phagozytose von Fremdorganismen. Bestimmte Leukozyten, Makrophagen, Thrombozyten und B-Lymphozyten tragen an ihrer Oberfläche Rezeptoren für C3b, C3d und C4b. Diese Rezeptoren verleihen den Abwehrzellen die Fähigkeit, Fremdorganismen, welche diese Proteine an ihrer Oberfläche tragen, an sich zu binden; das Komplementspaltprodukt C3b ermöglicht über diesen, als Immunadhärenz be-

schriebenen Vorgang die Phagozytose C3b-tragender Zellen und Bakterien (38, 141, 146, 168, 170, 197).

Die Aktivierung des Komplementsystems kann auf zwei verschiedenen Stoffwechselwegen erfolgen:

Bei der Aktivierung über den sogenannten klassischen Stoffwechselweg werden Antigen-Antikörper-Komplexe auf der Oberfläche von Bakterien oder anderen Zellen als aktivierte Immunglobuline von der Erkennungseinheit C1q, C1r, C1s des Komplementsystems erkannt und somit die Aktivierungskaskade ausgelöst (196).

Im alternativen Stoffwechselweg erfolgt die Aktivierung des Komplementsystems unabhängig von Immunglobulinen, dieser Aktivierungsweg stellt somit eine unspezifische Resistenz gegen Infektionen dar. Die wichtigsten Aktivatoren dieses Stoffwechselweges stellen bakterielle Lipopolysaccharide und Substanzen auf der Oberfläche verschiedener Krankheitserreger dar (196).

Der Ablauf der Komplementreaktion wird begrenzt durch die kurze Halbwertszeit einzelner aktivierter Komplementbestandteile (z.B. des C42-Komplexes und von C3b), sowie durch die im Serum vorhandenen Inhibitoren und Inaktivatoren (196).

Die Faktoren, die für die Opsonisierung von Bakterien erforderlich sind, variieren quantitativ bei den verschiedenen Mikroorganismen:

Alexander (2) schreibt von Staphylokokken und *E. coli*, deren Phagozytose in Gegenwart von frischem Normalserum oder spezifischen Immunglobulinen abläuft.

M. Simberkoff (174) berichtet von Untersuchungen mit Stämmen von *Serratia marcescens*; hier besitzt absorbiertes Serum keine opsonisierende Aktivität gegenüber Bakterien jenes Stammes, welcher für die Absorption verwendet wurde. Absorbiertes Serum verliert auch spezifisch seine Bakterizidie gegenüber demjenigen *Serratia*-Serotyp, welcher zur Absorption verwendet wurde. Durch Dekomplementierung (Serum über 45 Minuten auf 56°C erhitzt) geht die Bakterizidie des Serums gegen diese Bakterienspezies verloren und die Opsonisierungsfähigkeit von dekomplementiertem Serum gegenüber *Serratia marcescens* wird vermindert.

Bjornson und Michael (22) fordern für die optimale Opsonophagozytose und Abtötung von *Pseudomonas aeruginosa* natürliche Antikörper vom IgG-Typ, Properdin und den C3-Proaktivator. Werden spezifische Immunantikörper vom

IgG-Typ zugegeben, so werden Properdin und der C3-Proaktivator nicht benötigt.

Normales menschliches Serum besitzt gegen unsere Teststaphylokokken keine meßbare bakterizide Aktivität: Die Testbakterien vermehren sich bei 2h Inkubation in gepooltem Serum von gesunden erwachsenen Spendern und auch im Serum der untersuchten Patienten, sofern die Seren keine Antibiotika enthielten (siehe hierzu unter Abschnitt C. Punkt 3.1.3 auf den Seiten 83 - 88).

3. Granulozyten- und Serumopsoninfunktion bei den verschiedenen Patientengruppen

3.1 Patienten mit primärer Immundefizienz

3.1.1 Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS); siehe hierzu auch unter Abschnitt C. Punkt 1.1.1, Seite 27ff.

Beim Wiskott-Aldrich-Syndrom, einer rezessiv geschlechtsgebunden-vererbten Erkrankung mit Thrombopenie, sind die Patienten sehr anfällig für Pneumonien und Infektionen im HNO-Bereich (Otitis media); sie neigen ferner zu Ekzemen und zur Neoplasmaentwicklung, besonders zu Lymphomen (44, 101, 117). Partielle Defekte der humoralen und zellulären Immunität konnten bei WAS-Patienten regelmäßig beobachtet werden (24).

In unseren Untersuchungen konnten wir bei drei der vier WAS-Patienten eine mehr oder weniger ausgeprägte Störung der Granulozytenfunktion bei der Abtötung der Teststaphylokokken nachweisen, während bei keinem der Patienten eine Aktivitätserniedrigung der Serumopsonine gegen die Testbakterien erkennbar war.

Im Gegensatz hierzu fanden andere Autoren (17, 31, 39, 45, 48, 67, 100, 103, 110) bei WAS-Patienten in 13 untersuchten Fällen keine Einschränkung der Phagozytosefähigkeit und der Bakterizidie der neutrophilen Granulozyten, doch aber elektronenoptisch nachweisbare Strukturveränderungen der Granula in den Granulozyten (42).

Snyderman und Stahl (176) fanden bei WAS-Patienten eine Erniedrigung der chemotaktischen Antwortfähigkeit der Monozyten bei zugleich nachweisbarer Überproduktion eines chemotaktischen Faktors (LDCF = lymphocyte derived chemotactic Factor) durch Lymphozyten (ohne erkennbare Stimulation durch Antigene oder Mitogene). Winkelstein und Drachman (200) konnten an Monozyten ein normales IgG-Rezeptorensystem nachweisen, während Spitler et al. (179) sowohl von WAS-Patienten mit defekten Monozytenrezeptoren für zytophile Antikörper, als auch von Patienten mit normalen Monozytenrezeptoren für IgG und den Komplementfaktor C3 berichtet.

Die durch T-Lymphozyten bewirkte zelluläre Immunität scheint bei WAS-Patienten ebenfalls gestört bei stark verminderter Lymphozytentransformation nach Stimulation durch spezifische Antigene (17, 45).

Deutliche Veränderungen sieht man auch im Immunglobulinspektrum von WAS-Patienten; IgM ist meist erniedrigt, während IgA und IgE oft erhöht vor-

gefunden werden. Insbesondere scheint die Antikörperbildung gegen Polysaccharid-Antigene eingeschränkt zu sein (21, 23, 39, 116, 160, 161).

Störungen im Komplementsystem von WAS-Patienten sind bis jetzt nicht beschrieben worden, dementsprechend konnten wir bei unseren Patienten keine Serumopsoninfunktionsminderung gegen die Teststaphylokokken nachweisen (siehe hierzu unter Abschnitt D. Punkt 2, Seite 121 ff).

3.1.2 Patient mit septischer Granulomatose, sowie dessen Vater, Mutter und Schwester (siehe hierzu auch unter Abschnitt C. Punkt 1.1.2, Seite 30ff)

Patienten mit septischer Granulomatose leiden an rezidivierenden bakteriellen Infektionen durch Staphylokokkus aureus und einer Reihe von gramnegativen Bakterien. Klinisch imponieren Hauteiterungen, Lymphadenitiden, Hepatomegalie, Lungeninfiltrate und septische Schübe. Postmortal fand man generalisierte Abszesse und Granulome (94, 117, 162).

Es wird eine x-chromosomale Vererbung des bei diesem Krankheitsbild bekannten Abtötungsdefektes der neutrophilen Granulozyten diskutiert bei vorwiegendem Befall des männlichen Geschlechts und intermediärer Ausprägung des Defektes bei einigen weiblichen Familienmitgliedern (199). Aber auch eine geschlechtsmodifizierte autosomal-rezessive Vererbung wird von einer Autorengruppe (183, 30) für möglich betrachtet, nachdem beim Vater eines Patienten mit septischer Granulomatose ein entsprechender granulozytärer Abtötungsdefekt nachgewiesen wurde.

Die neutrophilen Granulozyten dieser Patienten weisen eine reduzierte Bakterizidiekapazität gegenüber den Bakterien auf, welche meist in den Eiterherden gefunden werden; dies sind hauptsächlich Staphylokokkus aureus und einige gramnegative Keime (158). Andere Bakterien hingegen, wie z.B. Streptokokken (85) und Pneumokokken (114) werden rasch abgetötet. Die neutrophilen Granulozyten haben aber auch eine reduzierte viruzide und fungizide Aktivität (90, 104, 105, 113), zudem konnte ein Abtötungsdefekt der peripheren Monozyten gezeigt werden (43, 165).

Biochemisch fand man die phagozytose-induzierte Stimulation des O_2 -Verbrauchs (76), der Glukose 1-C Oxidation (14, 76), der H_2O_2 -Bereitstellung (12, 76), der NBT-Reduktion (13, 14, 140, 198) und der Jodination

(91) stark vermindert.

In unseren Untersuchungen zeigte sich bei dem Patienten mit septischer Granulomatose ein fast völliger Ausfall der Bakterizidie der Granulozyten gegenüber den Teststaphylokokken. Bei der Mutter und der Schwester des Patienten ist ebenfalls ein deutlicher, wenn auch nicht so sehr ausgeprägter Abtötungsdefekt der Granulozyten nachweisbar, während die Granulozyten des Vaters des Patienten keine Funktionsstörungen aufwiesen.

Diese familiäre Störung der granulozytären Bakterizidie wird, nach den Untersuchungsergebnissen zu urteilen, möglicherweise x-chromosomal vererbt, wobei die Mutter und Schwester des Patienten eine intermediäre Ausprägung des granulozytären Abtötungsdefektes zeigen (siehe hierzu auch Abb. 7 auf Seite 33).

Eine Serumopsoninfunktionsstörung gegenüber den Teststaphylokokken war in geringer Ausprägung nur bei dem Patienten festzustellen, nicht bei den übrigen Familienmitgliedern. Eine familiäre Belastung scheint hier somit nicht vorzuliegen. Opsonindefizienzen sind bei Patienten mit septischer Granulomatose noch nicht beschrieben worden, möglicherweise liegt hier eine zusätzliche, von der Grunderkrankung unabhängige Opsonisierungsstörung vor, jedoch muß bei der Schwere der Erkrankung auch ein Verbrauch an Opsoninfaktoren diskutiert werden.

3.1.3 Sechs Patienten mit bekannten Immundefekten (siehe hierzu auch unter Abschnitt C, Punkt 1.1.3, Seite 33ff)

Drei Patienten mit Störungen im humoralen Abwehrsystem wurden untersucht: Bei Patient 9 (siehe Tab. 13) fand man bei der Immunglobulinbestimmung erniedrigte IgG und IgA - Serumkonzentrationen bei im Normbereich befindlichem IgM. Die neutrophilen Granulozyten weisen einen signifikanten Abtötungsdefekt auf, ein pathogenetischer Zusammenhang zwischen diesem Befund und der Dysgammaglobulinämie war nicht erkennbar.

Die Opsonine im Serum dieses Patienten haben mit Patientengranulozyten im Vergleich zu Poolserum nur nach 2h Inkubation eine normale Funktionsrate, jedoch ist nach 1h Inkubation die Opsonisierungskapazität gegen die

Teststaphylokokken stark reduziert und zusammen mit den Kontrollgranulozyten ist im Patientenserum keine opsonisierende Aktivität mehr feststellbar. Nach diesen Ergebnissen kann eine Störung der Serumopsoninfunktion, insbesondere deren thermolabilen Fraktion (siehe Abschnitt D, Punkt 2, Seite 121), nicht sicher ausgeschlossen werden; bei den teils widersprüchlichen Ergebnissen muß jedoch auch ein methodischer Fehler diskutiert werden.

Bei Patient 10 (siehe Tab. 13) liegt eine erworbene Form einer Hypogammaglobulinämie vor; klinisch imponierten rezidivierende schwere Bronchopneumonien und Bronchitiden. Die Serumopsoninaktivität war bei dem Patienten im Vergleich zu Poolserum nicht erniedrigt; die Bakterizidie der Patientengranulozyten wurde nicht getestet.

Bei Patient 11 (siehe Tab. 13) mit Agammaglobulinämie ließ sich weder eine Störung der granulozytären Bakterizidie, noch eine Erniedrigung der Serumopsoninaktivität nachweisen.

Die Bedeutung des Komplementsystems und der Immunglobuline in der Opsonisierung von Bakterien wurde in Abschnitt D, Punkt 2, Seite 121ff ausführlich dargestellt. Aus den dort diskutierten Untersuchungsergebnissen geht auch hervor, daß die Opsonisierung der Teststaphylokokken hauptsächlich eine Funktion des Serumkomplementsystems ist; Antikörper gegen die Teststaphylokokken tragen nur in geringem Maße zur Opsonisierung bei. Eine normale Aktivität der dem Komplementsystem zugehörigen Serumopsonine darf bei den Patienten 10 und 11 deshalb angenommen werden. Nach Müller-Eberhard (134) kommt aus dem Komplementsystem hauptsächlich dem C3-Spaltprodukt C3b, in geringem Maße dem C4b bei der Opsonisierung Bedeutung zu. Nach anderen Autoren (Alper (9), Jakobs und Miller (80) und Miller et al. (126)) wird auch C5 zur optimalen Opsonisierung und Phagozytose benötigt. Daß bei der Abwehr von bakteriellen Infektionen Antikörper vom IgG- und IgM-Typ eine große Rolle spielen, zeigen vergleichende Untersuchungen von Verbrennungspatienten (mehr als 20% der Körperoberfläche) an der Universität von Cincinnati (5): 11 von 75 Patienten, welche nicht mit Hyperimmunserum gegen *Pseudomonas aeruginosa* behandelt wurden, starben an den Folgen einer solchen Infektion, während bei 101 mit *Pseudomonas*-Hyperimmun-Gammaglobulinpräparaten behandelten Patienten keine Todesfälle durch *Pseudomonas*infektionen mehr zu beobachten waren.

Bei Patient 12 (siehe Tab. 13) ist ein Chemotaxisdefekt der Leukozyten bekannt, ferner eine Hyperimmunglobulinämie (IgE).

Bei unseren Untersuchungen konnte eine signifikant reduzierte Abtötungsrate der neutrophilen Granulozyten gegenüber der Teststaphylokokken nachgewiesen werden, die Serumopsoninfunktion war normal. Die erniedrigte Bakterizidie der Granulozyten läßt sich nicht durch den Chemotaxisdefekt der Granulozyten erklären, da in der flüssigen Phase des Versuchsansatzes der Kontakt zwischen Phagozyt und Bakterium durch die mittels eines Rotators erzeugte Flüssigkeitsbewegung zustande kommt, weniger durch die gerichtete Mobilität dieser Zellen (130).

Störungen in der chemotaktischen Antwortfähigkeit der Leukozyten sind bekannt bei Patienten mit Diabetes mellitus (133), beim Chediak-Higashi-Syndrom (32), einer hereditären Erkrankung mit Albinismus und rezidivierenden eitrigen Infektionen, beim "lazy leukocyte"-Syndrom (123), einer Erkrankung mit rezidivierenden Infektionen bei Neutropenie und verminderter Mobilisierung von neutrophilen Granulozyten aus dem Knochenmark, bei Patienten mit Morbus Down (89) und beim Job-Syndrom (71), hier treten rezidivierend Staphylokokkenabszesse und andere Infektionen mit Ekzembildung auf, IgE ist erhöht. Hill und Quie (72) konnten bei drei Patienten mit Staphylokokkeninfektionen, IgE-Hyperimmunglobulinämie und Manifestation allergischer Erkrankungen bei in vitro Versuchen einen kausalen Zusammenhang zwischen der Histaminresorption durch Granulozyten und der Entwicklung von granulozytären Chemotaxisdefekten nachweisen.

Bei der Patientin 13 (Tab. 13) wurde in getrennten Untersuchungen eine partielle Defizienz sowohl des B- als auch des T-Lymphozytensystems gefunden. Bei unseren Untersuchungen waren die Bakterizidiekapazität der Granulozyten und die Serumopsoninfunktion normal. Eine eventuell vorliegende Defizienz der Immunglobuline (bei o.g. Störung des B-Zellsystems) konnte mit unserer Untersuchungsmethode nicht sicher ausgeschlossen werden, da bei der Opsonisierung der Teststaphylokokken, wie schon auf Seite 121 angeführt, hauptsächlich Komplementfaktoren als Opsonine wirksam werden.

Ein totaler Funktionsausfall sowohl der neutrophilen Granulozyten als auch der Serumopsonine gegenüber den Teststaphylokokken ergab sich bei der Untersuchung eines Patienten mit Kostmann-Syndrom (Patient 14, Tab. 13). Diese chronische infantile Agranulozytose, von Kostmann in Schweden erstmals beschrieben, wird autosomal rezessiv vererbt (96). Die Patienten leiden an chronisch sich wiederholenden pyogenen Infektionen der Haut und

des Respirationstraktes (99 ,124); der Beginn der Symptome liegt im ersten Lebensjahr. 18 von 28 in der Literatur beschriebenen Patienten starben an Infektionen (11). Die absolute Zahl neutrophiler Granulozyten im peripheren Blutbild ist bei diesen Patienten meist unter $300/\text{mm}^3$, Monozyten und Eosinophile sind jedoch zahlenmäßig vermehrt, so daß die Gesamtleukozytenzahl nicht vermindert sein muß. Trotz der Tatsache, daß diese Monozyten und Eosinophile, verglichen mit den Monozyten von Patienten mit chronischen Infektionen, Bakterien normal phagozytieren und abtöten, erleiden diese Patienten schwere Infektionen, an denen sie meist schon in ihrer Kindheit ad exitum kommen (11).

3.1.4 Eine Patientin mit Morbus Down (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.1.4, Seite 37, sowie Tab. 14 und Abb. 9)

Eine Patientin mit Morbus Down war an atypischer Pneumonie erkrankt. Die neutrophilen Granulozyten wiesen bei unseren Untersuchungen einen signifikanten Abtötungsdefekt gegenüber den Teststaphylokokken auf. Eine geringgradige Erniedrigung der Serumopsoninaktivität lag möglicherweise ebenfalls vor, wobei Antibiotika im Serum die Auswertung der Ergebnisse erschwerten.

Morbus Down Patienten zeigen eine erhöhte Infektionsanfälligkeit; dies könnte unter anderem durch verschiedene Leukozytenfunktionsdefekte verursacht sein:

Rosner et.al. (167) konnten bei Morbus Down Patienten einen verringerten Phagozytoseindex und eine verminderte Adhäsivität der neutrophilen Granulozyten nachweisen. Kretschmer et.al. (98) berichten von einer erniedrigten Bakterizidiekapazität und einer geringen NBT-Reduktion. Gregory et.al. (66) fanden bei einer Studie bei 10 von 63 untersuchten Morbus Down Patienten einen Abtötungsdefekt der neutrophilen Granulozyten gegenüber Staphylokokkus aureus. Khan, Evans, et.al. (89) fanden bei Morbus Down Patienten eine signifikante Erniedrigung der chemotaktischen Migration der neutrophilen Granulozyten. Die Patienten waren während der Untersuchung frei von Infektionen.

3.1.5 Drei Frühgeborene Patienten (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.1.5, Seite 37, Sowie Tab. 14 und Abb. 9)

Die Seren von drei Frühgeborenen (Patient 16, 17 und 18; Tab. 14) wurden auf ihre Serumopsoninaktivität gegenüber *Staphylokokkus aureus* untersucht. Die Patienten 16 und 17 zeigten hierbei eine sehr gute Serumopsoninfunktion, wobei bei Patient 17 zuvor ein Blutaustausch vorgenommen wurde. Bei der Patientin 18 wurde zur Serumgewinnung postmortal intrakardiales Blut entnommen. Aufgrund der Untersuchungsergebnisse ist eine signifikante Erniedrigung der Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken möglich, wobei Antibiotika im Serum die Bewertung der Ergebnisse erschweren. Ob die reduzierte Opsonisierungskapazität des Serums durch einen finalen bzw. postmortalen Komplementverbrauch verursacht wurde, bleibt zu diskutieren.

Neugeborene, besonders jedoch Frühgeborene, sind vermehrt Infektionsanfällig. Das mag zumindest zum Teil damit zusammenhängen, daß Neugeborene nur diaplastentar von der Mutter übertragene Immunglobuline vom IgG-Typ besitzen, diese werden postnatal über Monate abgebaut. Die Eigenproduktion von IgG läuft zwar mit der Geburt an, doch entsteht im Alter von zwei bis drei Monaten ein Tiefpunkt der IgG-Konzentration im Serum (physiologische Hypogammaglobulinämie). Auch IgM ist bei Neugeborenen, sofern sie intrauterin keine Infektionen durchmachten, in nicht ausreichender Menge vorhanden (IgM und IgA sind nicht plazentagängig), die körpereigene Immunglobulinproduktion wird erst ab der Geburt durch die Auseinandersetzung mit der antigen-reichen Umwelt induziert (117).

Dem IgM wird eine besonders effektive Wirkung gegenüber gramnegativen Erregern zugeschrieben (122). Sein Fehlen kann somit zum Teil die Anfälligkeit Neugeborener gegenüber gramnegativen Mikroorganismen erklären.

Für eine optimale opsonisierende Aktivität ist für IgG, in größerem Maße für IgM, Komplement oder andere hitzelabile Faktoren nötig (46).

Fireman et.al. (56) konnten nachweisen, daß Seren von Frühgeborenen und von reifen Neugeborenen eine erniedrigte Konzentration von C3, C4 und C5 aufweisen, verglichen mit den Konzentrationen in den Seren der Mütter und normaler Erwachsener. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Propp und Alper (156) und Koch et.al. (95) bei der Untersuchung von Neugeborenen-Seren. Dosset et.al. (46) stellten bei Neugeborenen eine verringerte Opsonisierungsfähigkeit gegenüber *E. coli* und *Serratia marcescens* fest; der Serumopsonintiter gegen *Staphylokokkus aureus* und Streptokokken der Gruppe B

war normal.

Miller (125) konnte im Serum von reifen Neugeborenen eine erniedrigte Opsonisierungsaktivität gegen Hefepartikel nachweisen.

Foreman und Stiehm (58) fanden im Gegensatz zu Dosset (46) keinen Opsonisierungsdefekt im Serum reifer Neugeborener gegen den gleichen *Serratia marcescens* Stamm, den Dosset untersucht hatte; gegen *Staphylokokkus aureus* 502 A zeigte sich im Serum dieser Patienten ebenfalls kein Opsonisierungsdefekt. Jedoch konnten sie bei 12 von 13 Frühgeborenen gegen beide Mikroorganismen eine inadäquate Opsonisierung feststellen.

Mc Cracken und Eichenwald (40) untersuchten die Opsonisierungsaktivität von Neugeborenen gegen *Staphylokokkus aureus* 502 A, *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa*. Sie stellten fest, daß die Serumopsoninaktivität in 10 - 25 prozentigem Serum mit dem Geburtsgewicht variierte. Im Serum von Kindern unter 3000 Gramm Geburtsgewicht war die Aktivität gegen alle drei Mikroorganismen vermindert, der Defekt war jedoch gegen die gramnegativen Bakterien beträchtlich größer als gegen *Staphylokokkus aureus*.

Die chemotaktische Antwort der neutrophilen Granulozyten von Neugeborenen ist deutlich vermindert; auch die chemotaktische Aktivität des Serums ist erniedrigt, was möglicherweise auf den relativen Mangel an C3 und C5 zurückzuführen ist (127).

Die spontane Reduzierung von NBT ist bei Neugeborenen erhöht (78). Sie normalisierte sich etwa 4 Wochen nach der Geburt (61,148). Cocchi et.al. (33) berichteten bei Frühgeborenen von einer Abnahme NBT-positiver Zellen bei Infektionen. Nach Xanthou (201) war die Abtötungskapazität der Leukozyten von Frühgeborenen und Neugeborenen gegen *Candida albicans* erniedrigt.

3.2 Patienten mit sekundärer Immundefizienz

3.2.1 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL); siehe hierzu auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.1, Seite 40ff.

Bei den zehn von uns untersuchten Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie ergab sich in keinem Fall ein Hinweis auf eine funktionelle Störung der Serumopsonine gegenüber *Staphylokokkus aureus*, wobei die Serumopsoninaktivität bei den Patienten 22 und 23 (siehe Tab. 15) durch Intraglobintherapie bzw. durch vorangehende Bluttransfusionen beeinflusst sein könnten. Die granulozytäre Phagozytose-Bakterizidiekapazität wurde bei sechs dieser ALL-Patienten untersucht, in fünf Fällen war hierbei eine signifikant verminderte Abtötungsrate gegenüber den Teststaphylokokken nachweisbar. Diese Ergebnisse stimmen überein mit den Angaben in Tabelle 4 auf Seite 9, wo eine erniedrigte Abtötung von Mikroorganismen durch Phagozyten bei Leukämie-Patienten angegeben ist.

Die Infektionsanfälligkeit von Leukämie-Patienten ist bekannt. Zwei Drittel (107) bis 80 Prozent (11) der Leukämiekranken sterben an Infektionen. Häufig sind die Infektionserreger opportunistische Keime mit fakultativer Pathogenität (z.B. *Pneumocystis carinii*, Cytomegalie-Viren, verschiedene gramnegative Bakterien und Pilze) (107).

Gregory et. al. (66) konnten bei 6 von 25 Kindern mit ALL eine Störung der intrazellulären Abtötung von *Staphylokokkus aureus* nachweisen.

Die Beeinträchtigung des Abwehrapparates bei ALL-Patienten dürfte vor allem durch die Knochenmarksinfiltration durch Lymphoblasten ausgelöst werden, die sekundär unter anderem zur Neutropenie führt (11,107). Auch durch die Therapie mit Zytostatika und durch Bestrahlung wird das noch gesunde Knochenmark quantitativ reduziert (107). Durch Infiltration der lymphatischen Organe, sowie durch Chemotherapie und Strahlenbehandlung wird weiterhin die Zahl funktionfähiger, immunologisch aktiver Lymphozyten reduziert, so daß die zellgebundene und humorale Immunität Schaden leiden könnten (107).

Durch Bestrahlung scheint die Phagozytosefähigkeit und die intrazelluläre Abtötung beeinträchtigt zu werden: Zellen im Peritonealexsudat eines bestrahlten Meerschweinchens zeigten eine verringerte Phagozytose und intrazelluläre Abtötung von Bakterien. Als Ursache dafür wird eine Verminderung der intragranulozytären H_2O_2 - Produktion angesehen (151,152).

Mc Ripley et.al. (164) fanden bei bestrahlten Patienten eine erniedrigte granulozytäre Abtötung von gramnegativen Erregern. Baehner et.al. (15) untersuchten Kinder mit ALL während der Phase der prophylaktischen Schädelbestrahlung. Es ergab sich eine reversible verringerte Abtötung von Staphylokokkus aureus, Diplokokkus pneumoniae und Pseudomonas aeruginosa bei einer normalen Phagozytosefähigkeit. Dieser Defekt blieb auch nach Zugabe von Serum von nicht bestrahlten Kontrollpersonen erhalten. Der O₂-Verbrauch, die Aktivität des Hexose-Monophosphat-Shunt's und der MPO (Myeloperoxidase) entsprachen der Norm, während die Jodisierungsrate von Zymosanpartikeln deutlich verringert war.

Die Schädelbestrahlung bei unserer Patientin 24 (Tab. 15), die zwei Tage vor der Untersuchung begonnen worden war, scheint sich (noch) nicht auf die Phagozytose-Bakterizidierate der neutrophilen Granulozyten ausgewirkt zu haben.

3.2.2 Ein Patient mit akuter myeloischer Leukämie (AML) und Myeloperoxidasemangel, sowie dessen Familienangehörige (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.2, Seite 45ff)

Bei dem Patienten mit AML ergaben unsere Untersuchungen eine reduzierte granulozytäre Abtötungsrate gegenüber den Teststaphylokokken und eine zumindest temporäre Verminderung der Opsonisierungspotenz des Serums. Die Aktivität der Serumopsonine des Patienten wird jedoch bei den ersten beiden Untersuchungen durch Frischbluttransfusionen verfälscht, bei der dritten Untersuchung ist die Serumopsoninaktivität gegenüber Staphylokokkus aureus stark erniedrigt. In getrennten Untersuchungen wurde bei diesem Patienten ein Myeloperoxidasemangel der Leukozyten nachgewiesen, was die intrazelluläre Abtötungsstörung der Granulozyten erklären könnte.

Eine Serumkomplementbestimmung im Serum dieses Patienten ergab einen hohen CH₅₀ Wert, sowie stark erhöhte Serumkonzentrationen für den C1-Inaktivator, für C4 und C3; eine sichere klinisch-pathologische Relevanz dieser Erhöhungen konnte noch nicht angegeben werden (Prof. Opferkuch, Ruhr-Universität Bochum), möglicherweise kam sie reaktiv infolge häufiger Infektionen bei reduzierter granulozytärer Abtötungskapazität zustande. Aufgrund der Befunde muß jedoch auch ein nicht näher klassifizierter Komplementdefekt

diskutiert werden mit verminderter Aktivierbarkeit des Komplementsystems und vermehrter Ansammlung einzelner Komplementfaktoren; hierfür würde auch der erhöhte CH₅₀ Wert sprechen als Maß für diejenige Komplementmenge, welche zur Lyse von 50 Prozent einer definierten Erythrozytenanzahl nötig ist. Die bei unseren Untersuchungen festgestellte Serumopsoninaktivitätsminderung spricht ebenfalls für eine Störung im Komplementsystem, da, wie auf Seite 121 angeführt, hauptsächlich Komplementfaktoren als Opsonine gegenüber den Teststaphylokokken wirksam werden.

Die Granulozyten- und Serumopsoninfunktionsstörungen scheinen bei dem Patienten durch familiäre Belastung zumindest mitbedingt zu sein: Die Granulozyten des Vaters wiesen ebenfalls eine signifikant erniedrigte Abtötungsrate auf; die Mutter und die Großmutter (mütterlicherseits) des Patienten hatten beide eine signifikant erniedrigte Serumopsoninaktivität. Eine x-chromosomal rezessive Vererbung der Serumopsoninstörung ist möglich (siehe auch Abb. 12 auf Seite 51).

Die Ursachen der erhöhten Infektionsanfälligkeit von AML-Patienten sind denen von ALL-Patienten ähnlich. Auch hier kommt es zur Infiltration des blutbildenden Knochenmarks durch die pathologischen Zellen (hier Myeloblasten) und zu der daraus resultierenden Verdrängung der gesunden Zellpopulationen. Auch Therapiemaßnahmen wie Zytostatikabehandlung und Bestrahlung dürften die verbleibenden immunkompetenten Zellen, sowie die Phagozyten beeinflussen (11, 107).

Verschiedene Autoren konnten bei AML-Patienten auch eine verminderte granulozytäre Mobilisation im Rebuck-Hautfenster nachweisen (26, 154).

Während anfangs die Resultate bei Untersuchungen zur Phagozytoseaktivität bei AML-Patienten in der Literatur widersprechend waren (62), zeigen neuere Untersuchungen keine Beeinträchtigung dieses Schrittes (63).

Lehrer et.al. (106) fanden bei AML-Patienten eine deutliche Verminderung der Abtötungsrate von *Candida albicans*; diese Funktionsminderung war sowohl durch die Phagozyten als auch durch das Plasma des Patienten bedingt, wie Untersuchungen mit normalen Granulozyten im Plasma von AML-Patienten zeigten (25, 63).

Gregory et.al. (66) fanden auch bei AML-Kindern (bei einem von fünf) eine Beeinträchtigung der intrazellulären Abtötung von *Staphylokokkus aureus*.

3.2.3 Patienten mit thermischen Verletzungen (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.3, Seite 52ff)

Bei der Patientin mit Verbrennungen (Patient 37, Tab. 2a), die 30 % der Körperoberfläche betrafen, konnte eine signifikante Aktivitätsminderung der Serumopsonine gegenüber den Teststaphylokokken nachgewiesen werden, wobei, wie auf Seite 121 dargestellt, primär eine Defizienz der thermolabilen Serumopsoninkomponente (Komplement) anzunehmen ist. Eine Frischbluttransfusion wurde bei der Patientin erst nach der Probengewinnung vorgenommen. Die Patientin kam noch am Tag der Probeentnahme ad exitum. Die erniedrigte Serumopsoninfunktion könnte mit dem sich rapide verschlechternden klinischen Zustand in Verbindung gebracht werden.

Im Gegensatz dazu war die Aktivität der Serumopsonine bei der Patientin mit Verbrühungen (Patientin 36, Tab. 2a) im Vergleich zu Poolserum eher gesteigert. Die granulozytäre Phagozytose-Bakterizidiekapazität dieser Patientin war bei allen vier Untersuchungen erniedrigt. Während der Untersuchungen wurde die Patientin wiederholt mit Beriglobin und Proopsonin behandelt, was die unerwartet hohe Funktionsrate der Serumopsonine erklären könnte.

Warden et.al. (194) untersuchten 46 Patienten mit thermischen Verletzungen. Bei allen 46 war die Leukozytenmigration (Boyden-Technik) vermindert.

Alexander et.al. (7 , 8) konnten bei Patienten mit thermischen Verletzungen einen intragranulozytären Abtötungsdefekt nachweisen; die Phagozytosefähigkeit war dabei nicht vermindert, in den meisten Fällen war sie sogar erhöht. Alexander (1) konnte auch feststellen, daß bei Patienten mit mehr als 30 % verbrannter Körperoberfläche in den Leukozyten die Konzentrationen von drei lysosomalen Enzymen (β -Glucuronidase, saure Phosphatase, Lysozym) vermindert waren; der Tiefpunkt war zwischen dem sechsten und zehnten Tag nach der Verletzung erreicht, was mit dem Maximum der Anfälligkeit für septische Infektionen zusammentraf.

Alexander (5) berichtet auch von Erfolgen bei der Bekämpfung von Wundsepsis bei Verbrennungspatienten (*Pseudomonas aeruginosa* als wichtigster Erreger) durch die therapeutische Gabe von *Pseudomonas*-Hyperimmun-Gammaglobulinen (siehe auch die Ausführungen auf Seite 129 unten).

3.2.4 Zwei splenektomierte Patienten (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.4, Seite 55ff)

Bei zwei Patienten mit Zustand nach Splenektomie wurden die granulozytäre Abtötungskapazität und die Serumopsoninfunktion untersucht. Die Indikation zur Splenektomie war bei Patient 38 eine hämolytische Anämie, bei Patient 39 ein Morbus Hodgkin.

Unsere Untersuchungen ergaben bei beiden Patienten signifikant erniedrigte Phagozytose-Bakterizidieraten gegenüber *Staphylokokkus aureus*. Bei Patient 38 war 13 Tage nach Milzexstirpation die Granulozytenfunktionsstörung noch nicht so ausgeprägt wie 7 Monate nach diesem Eingriff.

Die Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken war bei Patient 38 nicht erniedrigt, obgleich verminderte Antikörpertiter gegen bakterielle Antigene nachgewiesen wurden und auch IgG unter der Norm lag (siehe Tab. 21). Da zur Opsonisierung der Teststaphylokokken jedoch hauptsächlich die thermolabilen Serumopsonine benötigt werden (siehe Seite 121), war dieses Ergebnis doch nicht überraschend. Die Serumopsoninaktivität bei Patient 39 war gegenüber den Teststaphylokokken signifikant erniedrigt.

Untersuchungen von Schulkind et.al. (173), Winkelstein und Drachman (200), sowie Ellis und Smith (51) lassen vermuten, daß bei pathologischen Veränderungen oder völligem Fehlen der Milz sogenannte frühe Antikörper (IgM) nur in begrenztem Umfang bereitgestellt werden, so daß virulente Bakterien wie *Hämophilus influenzae* und Pneumokokken nicht mehr effektiv bekämpft werden können. Auch das Fehlen von hitzelabilen Opsoninkomponenten wurde bei splenektomierten Patienten beschrieben (200).

Die Phagozytose und Pinozytose von neutrophilen Granulozyten wird durch ein zytophiles Serumprotein, genannt Leukokinin, stimuliert. Dieses Protein lagert sich an die Membranoberfläche der neutrophilen Granulozyten an. Die gesamte biologische Aktivität dieses, in der Elektrophorese im Gammabereich wandernden Globulins findet sich in einem Spaltprodukt, genannt Tuftsin-Peptid. Dieses Peptid wird an der Membranoberfläche der Granulozyten durch Enzymeinwirkung von Leukokinin abgespalten und von den Granulozyten aufgenommen, wo es seine phagozytosefördernde Aktivität entfaltet; zurück bleibt ein inaktives Leukokinin-Molekül. An dieses wird in der Milz ein neues Tuftsin-Molekül angelagert oder das inaktive Leukokinin wird abgespalten und abgebaut und aktives Leukokinin wird in der Milz neu gebildet (36, 54, 55, 137, 138). Das Tuftsin-Peptid fehlt bei splenektomierten Patienten (36); aber auch von Patienten mit genetisch bedingt abnor-

maler Tufts-inbildung wird berichtet (37,139).

Die reduzierte granulozytäre Phagozytose-Bakterizidierate der beiden splenektomierten Patienten beruht somit sehr wahrscheinlich auf einer Störung der Phagozytose, die durch das Fehlen des Tufts-in-Peptids verursacht sein könnte.

Die verringerte Serumopsoninaktivität des Patienten 39 gegenüber den Teststaphylokokken kann durch eine verminderte Bereitstellung von IgM, mehr jedoch durch den Mangel an hitzelabilen Opsoninfaktoren verursacht sein (200), zumal zur Opsonisierung der Teststaphylokokken in erster Linie thermolabile Serumopsonine benötigt werden (siehe hierzu Seite 121). Ein kausaler Zusammenhang zwischen verminderter Serumopsoninaktivität und der bei Hodgkin Patienten bekannten Defizienz der zellgebundenen Immunität (69) muß ferner diskutiert werden. Die Aktivitätsminderung könnte aber auch eine primäre Folge des in diesem Fall sehr schlechten klinischen Allgemeinzustandes sein mit Verbrauch oder mangelnder Neubildung von Opsoninfaktoren.

3.2.5 Patientin mit Urämie und Nephrektomie (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.5, Seite 56, sowie Tab. 21 und Abb. 14)

Die neutrophilen Granulozyten dieser Patientin zeigten eine signifikant erniedrigte Phagozytose-Bakterizidierate. Eine endgültige Beurteilung der Serumopsoninaktivität war wegen des sehr hohen Antibiotikagehaltes im Serum mit bakterizider Wirkung auf die Teststaphylokokken nicht möglich.

Baum (18) fand bei sechs von acht Urämiepatienten eine verminderte Chemotaxis der Leukozyten. Brogen (28) und Montgomery et.al. (132) berichteten von einer verringerten Phagozytose bei Urämiepatienten.

Ob die Granulozytenfunktionsstörung bei unserer Patientin auf einem Phagozytosedefekt oder einer verminderten Bakterizidie beruht, kann mit unserer Untersuchungsmethode nicht entschieden werden.

3.2.6 Patient mit Diabetes mellitus (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.2.6, Seite 56, sowie Tab. 21 und Abb. 14)

Bei dem Patienten mit Diabetes mellitus konnten wir eine signifikant erniedrigte Abtötungsrate der neutrophilen Granulozyten gegenüber den Teststaphylokokken nachweisen, die Serumopsoninaktivität war normal.

Miller und Baker (128), sowie Mowat und Baum (133) fanden bei Diabetes mellitus Patienten eine Störung der leukotaktischen Aktivität der neutrophilen Granulozyten und eine Erniedrigung chemotaktischer Faktoren im Serum. Insulin konnte die Störung in der chemotaktischen Aktivität nicht korrigieren. Die granulozytäre Phagozytose war bei diesen Patienten nicht beeinträchtigt. Nach Perillie et.al. (153) ist die Mobilisierung von Leukozyten im Rebuick-Hautfenster bei Diabetes mellitus ebenfalls gestört. Bybee (29) zeigte, daß bei diabetischen Patienten mit Ketoazidose die Phagozytose und intrazelluläre Abtötung pathogener Staphylokokken erniedrigt ist. Mit der Korrektur der Ketoazidose in vivo konnte auch der in vitro Phagozytosedefekt korrigiert werden. Auch Rohmann (166), Drachman et.al. (49) und Bagdale (15) berichten bei Diabetes mellitus Patienten von einer gestörten Phagozytose.

In vitro Untersuchungen bei diabetischen Kindern durch Niethammer et.al. (143) ergaben eine Störung der intrazellulären Abtötung von Staphylokokkus aureus, jedoch keine Erniedrigung des Phagozytoseindex gegenüber Candida albicans; ferner war die chemotaktische Aktivität verringert, der NBT-Index und die intrazelluläre Abtötung von Candida albicans waren normal. Eine optimale Einstellung des Diabetes mellitus führte zu einer Erhöhung der Bakterizidiekapazität.

In der von uns durchgesehenen Literatur fand sich kein Hinweis auf eine erniedrigte Aktivität der Serumopsonine bei Diabetes mellitus.

3.3 Patienten ohne diagnostizierte Immundefizienz

3.3.1 Patienten mit rezidivierenden Staphylokokken-Hautabszessen (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.3.1, Seite 59ff)

Bei vier von fünf Patienten mit Staphylokokken-Hautabszessen wurde die Phagozytose-Bakterizidiekapazität der neutrophilen Granulozyten gegenüber *Staphylokokkus aureus* untersucht. In keinem Fall konnte eine erniedrigte Abtötungsrate nachgewiesen werden.

Bei zwei Patienten aus dieser Gruppe fanden wir eine signifikant erniedrigte Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken (Patienten 45 und 46, Tab. 22). Bei beiden Patienten wurden stark erniedrigte bakterielle Antikörpertiter festgestellt, eine Defizienz im humoralen Abwehrsystem könnte somit vorliegen. Bei Patient 46 fanden sich ferner IgG und die B-1C/1A-Proteine erhöht. Dies kann Ausdruck einer Insuffizienz der opsonisierenden Serumbestandteile sein, da trotz der offenbar reaktiv erhöhten IgG-Immunglobuline und der B-1C/1A-Fraktion in der Elektrophorese die Opsonisierungspotenz erniedrigt ist. Bei den übrigen drei Patienten war kein signifikanter Serumopsonindefekt gegenüber den Teststaphylokokken verifizierbar.

Ward und Schlegel (193) untersuchten ein Kind mit wiederholten Infektionen der Haut und des Respirationstraktes (*Klebsiella pneumoniae* und *E. coli*); sie konnten einen Defekt in der leukotaktischen Antwortfähigkeit der Leukozyten *in vitro* und *in vivo* nachweisen. Zumindest zum Teil soll die Störung durch einen im Serum vorhandenen Inhibitor der granulozytären Chemotaxis verursacht sein. Auch von anderen Autoren wurden bei Patienten mit Chemotaxisdefekten Hauterkrankungen wie Ekzeme und Ichthyosis beobachtet (68, 72, 126, 129). Ebenso sind beim Wiskott-Aldrich-Syndrom und beim Job-Syndrom Chemotaxisdefekte nachgewiesen worden, auch hier imponieren klinisch Ekzembildung bzw. Staphylokokkenabszesse (176, 71).

Bei zwei nicht verwandten Familien (80, 126) wurde von einer CS-Dysfunktion berichtet. Die betroffenen Familienmitglieder waren Kinder mit generalisierter seborrhoischer Dermatitis, schwer behandelbarer Diarrhoe, sowie lokalen und systemischen gramnegativen Infektionen. Es wurde eine fehlerhafte Ingestion von Hefepartikeln nachgewiesen, die Therapie mit Frischserum führte zu einer vorübergehenden Besserung des klinischen Bildes. Von Quadripur (157) wurden an 43 Patienten mit bakteriellen Infektionen

der Haut erniedrigte Phagozytoseraten gefunden. Dale und Wolf (41) berichteten von neutropenischen Patienten, die an relativ leichten, nicht häufig auftretenden Infektionen der Haut und der Schleimhäute litten.

Zusammenfassend können bei Patienten mit Infektionen und anderen Erkrankungen der Haut Störungen an verschiedenen Stufen des körpereigenen Abwehrsystems gefunden werden, auffällig gehäuft werden in der Literatur Störungen der Chemotaxis beschrieben.

3.3.2 Neun Patienten mit bakterieller Sepsis (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.3.2, Seite 62ff)

Neun Patienten mit bakterieller Sepsis wurden von uns untersucht. Zwei Patienten hatten eine ALL als Grunderkrankung, bei einem Patienten wurde ein Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS) diagnostiziert und ein Patient litt an einem Morbus Hodgkin mit Zustand nach Milzexstirpation.

Bei fünf dieser Patienten konnte ein Opsonisierungsdefekt gegenüber den Teststaphylokokken ausgeschlossen werden (Patienten 1, 26, 28 49 und 51), hierunter waren auch die ALL-Patienten und der Patient mit WAS. Bei zwei weiteren Patienten ist eine Opsonisierungsschwäche unwahrscheinlich (Patienten 48 und 50). Bei der Untersuchung des Patienten mit Endokarditis und Lentasepsis (Patient 47) war die Opsonisierungspotenz von Poolserum stark erniedrigt, bei fehlendem Vergleichsserum konnte die Serumopsoninaktivität dieses Patienten nicht entgeltig beurteilt werden, eine massive Störung der Serumopsoninfunktion gegenüber Staphylokokkus aureus kann jedoch auch hier ausgeschlossen werden.

Nur bei einem Patienten (Patient 39) wurde eine signifikante Erniedrigung Der Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken nachgewiesen, wobei diese Erniedrigung aber auch durch die Grunderkrankung mitverursacht sein könnte (Morbus Hodgkin, Zustand nach Splenektomie).

Bei allen drei Patienten, bei denen die granulozytäre Phagozytose-Bakterizidiekapazität untersucht wurde (Patienten 1, 39 und 47), war eine signifikant erniedrigte granulozytäre Abtötungsrate festzustellen, wobei bei den Patienten 1 (WAS) und 39 (Morbus Hodgkin) deren Grunderkrankungen bei der Beurteilung der Störungen mitberücksichtigt werden müssen.

Auch andere Autoren (2 , 4) kommen zu dem Schluß, daß, ohne Rücksicht auf die Ursache der Störung, abnorme Granulozytenfunktionen in signifikanter Weise verbunden sind mit erhöhter Empfänglichkeit für die Entwicklung lebensbedrohender Sepsiszustände. Für die Abwehr septikämischer Infektionen sind das RES und Monozyten von besonderer Bedeutung (2), wenngleich auch von Fällen berichtet wird, wo aus einer RES-Depression keine erniedrigte Resistenz gegen Infektionen resultierte; in einigen Fällen scheint die Resistenz sogar gesteigert gewesen zu sein (27).

Es scheint also, daß als Ursache bei der Entwicklung bakterieller septikämischer Infektionen primär eine Störung der Phagozytenfunktion in Frage kommt, eine Minderung der Serumopsoninaktivität dürfte hierbei als pathogenetischer Faktor weniger in Betracht zu ziehen sein.

3.3.3 Neun Patienten mit verschiedenen Infektionen (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 1.3.3, Seite 66ff)

Bei neun Patienten mit Infektionen verschiedener Art wurde die Phagozytose-Bakterizidiekapazität der neutrophilen Granulozyten und die Serumopsoninaktivität gegenüber *Staphylokokkus aureus* untersucht.

Bei fünf dieser Patienten zeigten die Granulozyten eine signifikant erniedrigte Abtötungsrate, es waren dies eine Patientin mit chronischer Pneumonie (Patient 52), ein Patient mit rezidivierender ulzeröser Stomatitis (Patient 54), ein Patient mit unklarem Rundherd in der Lunge (Patient 55), eine Patientin mit Gastroenteritis (Patient 56) und ein Patient mit unklaren Fieberschüben bei Neurodermitis diffusa und Sinusitis maxillaris (Patient 57).

Bei den Patienten 56 und 57 konnte zusätzlich eine erniedrigte Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken nachgewiesen werden. In der Serumelektrophorese fand man die bei Infektionen üblicherweise vorliegende Verschiebung der Serumproteinrelation mit Alpha-2-Globulin- bzw. Alpha-1-Globulin-Erhöhung, jedoch ein unauffälliges Immunglobulinmuster. Nach den Ausführungen auf Seite 121 lassen erniedrigte Serumopsoninaktivitäten gegenüber den Teststaphylokokken in erster Linie auf eine Defizienz des Komp-

lementsyste.ms schließen.

Bei den Patienten 53, 58 und 59 fanden wir weder eine Granulozyten- noch eine Serumopsoninfunktionsstörung. Bei Patient 58 standen klinisch rezidivierende Infektionen der oberen Luftwege im Vordergrund bei Zytomegalie-Virusinfektion mit Neutropenie. Die Neutropenie könnte durch die Virusinfektion ausgelöst worden sein; die vermehrte Infektionsanfälligkeit ist möglicherweise auf die verminderte Anzahl neutrophiler Granulozyten zurückzuführen. Auch eine pulmonale Verlaufsform der Zytomegalie muß diskutiert werden. Bei Patient 59 wurde eine Kuhmilchallergie nachgewiesen mit asthmatoider Komponente bei Allergenkontakt. Der Patient 53 litt an chronisch rezidivierenden Infektionen der Lunge und der oberen Luftwege, in der Serumelektrophorese war die Gammaglobulinfraktion erniedrigt und die Antikörpertiter gegen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylokokkus aureus* waren unter der Norm, so daß die erhöhte Infektionsanfälligkeit dieses Patienten zum großen Teil durch eine Insuffizienz der humoralen Immunabwehr verursacht sein könnte; die thermolabilen Serumopsonine waren, wie unsere Untersuchungen zeigten, in ihrer Funktion nicht eingeschränkt (siehe auch Seite 121).

Bei dem an Hypospadie operierten Patienten (Patient 60) war 8 Tage postoperativ im Vergleich zu der präoperativen Untersuchung ein signifikanter Aktivitätsverlust der Serumopsonine gegenüber den Teststaphylokokken zu verzeichnen, wobei man jedoch bei getrennter Betrachtung des postoperativen Untersuchungsergebnisses keine Minderung der Opsonisierungsaktivität erkennen könnte. Mit dem Abfall der Serumopsoninaktivität fiel zeitlich eine Harnwegsinfektion zusammen, als Eintrittspforte der Infektionserreger kommen bei diesem Fall die Operationswunde und der Blasenkatheter in Betracht.

Im einzelnen handelt es sich hier aber um Untersuchungsergebnisse, die einer Bestätigung bzw. Erweiterung der infektionsimmunologischen Daten bedürfen.

Grundsätzlich können Defekte an den verschiedensten Stellen des körpereigenen Abwehrsystems (inadäquate entzündliche Gefäßreaktion der Endstrombahn, Störungen der Chemotaxis, der leukozytären Migration, der Opsonisierung, der Adhäsivität und der intrazellulären Abtötung) mit zum Teil sehr schweren Infektionen hauptsächlich bakterieller Genese verbunden sein: So resultieren, ohne Rücksicht auf die pathogenetische Ursache, aus verminderter Gewebesperfusion oder der Blockade der entzündlichen Reaktion des Gefäßsystems eine inadäquate Bereitstellung von phagozytierenden Zellen

und von opsonisierenden Serumbestandteilen im Bereich einer Läsion. Folge kann eine erhöhte Infektionsanfälligkeit in diesem Bereich sein (2). Eine nicht unerhebliche Bedeutung im Angehen chirurgischer Infektionen gewinnen Bedingungen wie Schock mit generalisierter Herabsetzung der Gewebsperfusion, disseminierte intravasale Gerinnung, Fremdkörper, Hämatome oder seröse Exsudate in Hohlräumen, Anwendung vasokonstriktiver Pharmaka, sowie generell Zustände, die die Mikrozirkulation unterdrücken (6).

Soriano et.al. (178) berichten von einem Kind mit rezidivierenden Staphylokokkeninfektionen, disseminierter Zytomegalie-Virus-Infektion und Autoimmunreaktion. Sie fanden bei diesem Kind eine Beeinträchtigung der Motilität von neutrophilen Granulozyten; in vitro Studien zeigten, daß die Abnormität durch einen im Serum vorhandenen Inhibitor hervorgerufen wurde; normales Plasma hob den Defekt auf.

Andere Autoren (78,120,149) fanden in den Leukozyten von Patienten mit bakteriellen Infektionen eine gesteigerte spontane NBT-Reduktion. Graham (65) berichtet von einer graduellen Abnahme, in einigen Fällen von einem kompletten Verlust MPO-positiver Granula in Leukozyten von Patienten, welche an therapieresistenten bakteriellen Infektionen leiden.

Edelson et.al. (50) untersuchten drei Patienten mit bakteriellen Infektionen: Eine 24-jährige Patientin erkrankte an axillärer Adenitis, hervorgerufen durch Staphylokokken, wiederholten gingivalen Abszessen und Infektionen durch *E. coli* und *Pseudomonas*-Stämmen; bei der Patientin fanden sich Defekte der ungerichteten und der gerichteten Migration, der Adhäsivität und der Fähigkeit der neutrophilen Granulozyten, gramnegative Keime abzutöten. Die NBT-Reduktion war normal. Ein sechs Monate altes Kind litt an zervikaler Adenitis durch Staphylokokken. Auch bei dieser Patientin waren Störungen der gerichteten und ungerichteten Migration der Granulozyten, sowie der intrazellulären Abtötung gramnegativer Keime festzustellen. Die Adhäsivität der neutrophilen Granulozyten war nicht beeinträchtigt, die NBT-Reduktion normal. Der dritte Patient, ein 9-jähriger Junge, hatte seit einem Alter von 4 Monaten zahlreiche pyogene Infektionen, litt wiederholt an Pneumonien und perioralen Abszessen und hatte eine Meningitis (*Hafnia*-Spezies) durchgemacht. Auch dieser Patient zeigte einen Defekt in der Leukozyten-Motilität. Die NBT-Reduktion war gestört und die Abtötung von *Staphylokokkus aureus* und gramnegativen Organismen war defizient. Bei allen drei Patienten waren die Immunglobuline und die hämolytische Komplementaktivität (CH50) normal oder erhöht; die Leukozytenzahl war normal bis

leicht erhöht, auch das Differentialblutbild war normal bis geringfügig verändert. In keinem Fall fand sich eine signifikante Anzahl von neutrophilen Granulozyten mit toxischer Granulierung und die Granulozyten zeigten ein normales Reifestadium.

Messner et.al. (121) untersuchten drei Patienten, die zur Zeit der Untersuchung an schweren Infektionen litten, vorher aber gesund waren. Ihre Leukozyten hatten einen transitorischen Bakterizidiedefekt gegenüber *Staphylokokkus aureus*, bei einem Patienten schien eher ein Phagozytosedefekt vorzuliegen. Nach der Genesung konnten die Leukozyten aller drei Patienten die getesteten Bakterien (*E. coli*, *Staphylokokkus aureus*) normal abtöten. Die defekten Leukozyten hatten normale Oberflächenrezeptoren für IgG und Komplement, MPO-Färbung und NBT-Reduktion waren normal.

Soothill und Harvey (177) fanden bei 11 von 43 Kindern mit meist bakteriellen rezidivierenden Infektionen eine Störung der Opsonisierung von Hefepartikeln.

Alper et.al. (9) beschrieben einen Patienten mit erhöhter Anfälligkeit für pyogene Infektionen; bei diesem Patienten war die dritte Komplementkomponente C3 reduziert auf weniger als 10 Prozent der Normalkonzentration, während die übrigen Komplementfaktoren und die Leukozyten quantitativ und funktionell normal waren; typspezifische Immunglobuline gegen die (Test-) Bakterien (Pneumokokken) waren vorhanden.

Hill et.al. (73) untersuchten 25 Patienten mit zystischer Pankreasfibrose. 15 dieser Patienten zeigten Symptome einer aktiven pulmonalen Infektion, Blutkulturen waren negativ; die restlichen 10 Patienten hatten keine Zeichen einer pulmonalen Infektion. Die leukotaktische Aktivität zirkulierender neutrophiler Granulozyten war bei den 15 Patienten mit aktiver pulmonaler Infektion merklich erhöht, die spontane NBT-Reduktion war bei 13 der 15 Patienten erhöht. Die Autoren schließen aus den Ergebnissen, daß auf den Respirationstrakt beschränkte Infektionen die zirkulierenden Granulozyten stimulieren, ihre Antwortfähigkeit auf chemotaktische Faktoren verstärken und die NBT-Reduktionsfähigkeit erhöhen.

4. Untersuchungen mit Proopsonin

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurde ein Proteinextrakt aus gepooltem menschlichem Serum, Proopsonin, auf seine Fähigkeit hin geprüft, die Opsonisierungsaktivität von Poolserum und von Patientenserum gegenüber den Teststaphylokokken zu beeinflussen. Ferner sollten bakterio- statische oder bakterizide Eigenschaften des Proopsonins gegenüber *Staphylokokkus aureus* nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden.

4.1 In vitro Untersuchungen

4.1.1 Physikalisch-chemisches Profil von Proopsonin

Das physikalisch-chemische Profil von Proopsonin ist in Abschnitt 8, Punkt 4, Seiten 24 - 26 dargestellt; es handelt sich, in Bezug auf seinen Opsoningehalt, im wesentlichen um ein Immunglobulin-C3-Präparat; die lytische Aktivität (CH₅₀) des Komplementsystems ging in dem Präparat verloren und die frühen Komplementkomponenten (C1, C2, C4, C1-Inaktivator, C3-Aktivator) sind nicht oder nur in minimaler Konzentration nachweisbar (siehe Tab. 9, Seite 26). In der Antikörpertiterbestimmung gegen bakterielle Antigene fanden wir, wie auch in unserem Poolserum, gegen *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* und *Proteus mirabilis* hohe Werte. Gegen *Staphylokokkus aureus* waren die Antikörpertiter niedrig (siehe Tab. 10, Seite 26). Untersuchungen über die Opsonisierungsaktivität von Proopsonin gegenüber gramnegativen Testorganismen wären hier von großem Interesse, wurden jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

4.1.2 Einfluß der Proteinkonzentration in der Proopsoninlösung auf die Ergebnisse des Phagozytose-Bakterizidie-Tests

Bei den in vitro Versuchen erwies sich die vom Hersteller empfohlene Infusionskonzentration des Proopsonins (1 g Protein/100 ml) als am ehesten geeignet, einen steigernden Einfluß auf die Serumopsoninaktivität von 20 %-igem Serum gegen die Teststaphylokokken auszuüben (Siehe auch Abschnitt C, Punkt 3.1.1, Seite 76ff).

4.1.3 Bedeutung thermolabiler und thermostabiler Serumopsoninfaktoren bei der Beurteilung von Proopsonin (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 3.1.2, Seite 79ff und Abschnitt D, Punkt 2, Seite 121ff)

Die Phagozytose-Bakterizidie-Tests wurden auch bei diesen Untersuchungen ausschließlich mit Staphylokokkus aureus als Testbakterium durchgeführt. In unseren Untersuchungen mit absorbiertem, dekomplementiertem und filtriertem Serum (Seiten 79ff und 121ff) konnte gezeigt werden, daß bei der Opsonisierung der Teststaphylokokken in erster Linie thermolabile Serumproteine wirksam werden; die thermostabilen Serumproteine, wozu auch die Immunglobuline vom IgG und IgM Typ zählen, hatten gegenüber Staphylokokkus aureus nur eine unbedeutende Opsonisierungsaktivität, absorbiertes Serum wies eine nur geringfügig reduzierte Opsonisierungspotenz auf.

Von den thermolabilen Serumproteinen wird hauptsächlich den Komplementfaktoren C3 und C5 eine opsonisierende Aktivität zugeschrieben (9 , 80, 126, 134). Die Aktivierung des Komplementsystems bei der Opsonisierung unserer Teststaphylokokken erfolgt möglicherweise zum großen Teil über der alternativen Stoffwechselweg (siehe unter Abschnitt D, Punkt 2, Seite 121ff), da auch absorbiertes Serum, in welchem die spezifischen Immunglobuline gegen Staphylokokkus aureus als Aktivatoren des klassischen Stoffwechselweges fehlen, eine fast optimale Opsonisierung der Teststaphylokokken ermöglicht. Es muß deshalb auch bei der Beurteilung der Opsonisierungspotenz von Proopsonin , sowie von Serum-Proopsonin-Gemischen davon ausgegangen werden, daß die Ergebnisse hauptsächlich ein Maß für die in den Präparaten enthaltenen thermolabilen Opsoninfaktoren darstellen.

Die Zugabe von Proopsonin zu absorbiertem und zugleich dekomplementiertem Serum, zu dekomplementiertem Serum und zu filtriertem Serum (PM 10 Amicon-Filter) konnte die Opsonisierungsaktivität derart geschädigter Seren nur in geringem Maße rekonstituieren. Zugabe von Proopsonin zu absorbiertem Serum verschlechtert gar die opsonisierende Wirkung dieses Serums, was möglicherweise auf die durch den Proopsoninanteil verursachte Verdünnung der Komplementfaktoren-Konzentration ausgelöst wurde. Das etwas günstigere Abschneiden eines zum Vergleich mituntersuchten Immunglobulinpräparates beruht höchstwahrscheinlich auf seinem Merthiolatgehalt, einem Bakterio-
statikum; Proopsonin enthält nach Herstellerangaben keine vergleichbare konservierende Substanz.

4.1.4 Bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung von Proopsonin gegenüber Staphylokokkus aureus (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 3.1.3, Seite 83ff)

In dem von uns verwendeten Poolserum besteht gegen die Teststaphylokokken keine Bakterizidie und auch keine bakteriostatische Wirkung, die in Poolserum inokulierten Bakterien konnten sich nach 2h Inkubation in 29 von 30 Fällen vermehren (siehe Seite 83 und Abb. 21).

Proopsonin hingegen scheint auf die Teststaphylokokken zumindest einen bakteriostatischen Einfluß zu haben: In einer signifikanten Anzahl der untersuchten Fälle (19 von 27) war nach 2h Inkubation von Staphylokokken in Proopsonin eine Bakterienzahlabnahme erzielt worden (siehe Seite 83 und Abb. 22) und nach Inkubation der Teststaphylokokken in Poolserum-Proopsonin-, sowie Patientenserum-Proopsonin-Gemischen war ebenfalls bei einer signifikanten Fallzahl (in 24 von 27 bzw. 17 von 20 Fällen) ein schlechteres Bakterienwachstum festzustellen als in Poolserum und Patientenserum alleine (Seite 85, 86 und 88, sowie Abb. 23 und 24).

Partiell könnte das verminderte Bakterienwachstum bzw. die Wachstumshemmung auch daher rühren, daß die Staphylokokken in der Proopsoninlösung im Gegensatz zu Poolserum keine ausreichenden Mengen an Nährstoffen vorfinden, die sie für ihr Wachstum benötigen.

4.1.5 Einfluß des Proopsonins auf die Opsonisierungsaktivität von Poolserum und Patientenserum, sowie Opsonisierungspotenz von Proopsonin allein gegenüber den Teststaphylokokken (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 3.1.4 und 3.1.5, Seite 89-98)

Proopsonin alleine besitzt weder in Kombination mit den Kontrollgranulozyten, noch mit den Patientengranulozyten bei den in vitro Untersuchungen nennenswerte opsonisierende Aktivitäten gegenüber Staphylokokkus aureus (Seite 97 und Tab. 30).

Ferner wurde bei unseren Untersuchungen jeweils die Fähigkeit des Proopsonins mitgetestet, die Opsonisierungsaktivität von Poolserum und Patientenserum zu steigern (Seite 89, 91 und 96, sowie Tab. 29 und Abb. 25-32).

Hierbei konnte lediglich im Versuchsansatz Patientengranulozyten + Poolserum, 1h Inkubation, durch Proopsoninzusatz in einer signifikanten Fall-

zahl eine Steigerung der Opsonisierungsaktivität erreicht werden; in den übrigen Versuchsansätzen (siehe Tab. 29: Patientengranulozyten + Poolserum, 2h Inkubation; Patientengranulozyten + Patientenserum, 1h und 2h Inkubation; Kontrollgranulozyten + Poolserum und Kontrollgranulozyten + Patientenserum, 1h und 2h Inkubation) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fallzahlen n_1 (Opsonisierung mit Proopsonin besser) und n_2 (Opsonisierung mit Proopsonin schlechter) nachweisbar. Dieses Ergebnis ist möglicherweise auch als Hinweis dafür zu deuten, daß die Serumopsonine eine gewisse Spezifität besitzen können in ihrer Kooperationsfähigkeit mit den Phagozyten: Autologe Serumopsonine (in den Ansätzen Patientengranulozyten + Patientenserum und Kontrollgranulozyten + Poolserum; etwa 10 % des Poolserums stammen von dem Spender der Kontrollgranulozyten) bedürfen in ihrer Opsonisierungsaktivität weniger häufig einer Ergänzung durch andere opsoninhaltige Präparate (z.B. Immunglobuline) als homologe Serumopsonine. Dies scheint besonders dann zuzutreffen, wenn Testpersonen mit vermehrter Infektionsanfälligkeit, wie hier unsere Patienten, als Leukozytenspender fungieren (Ansatz: Patientengranulozyten + Poolserum, siehe Tab. 29).

4.1.6 Einfluß des Proopsonins auf die Bakterizidiekapazität von Patientengranulozyten in Abhängigkeit von deren Funktionszustand (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 3.1.6, Seite 99 und Abb. 33)

Von Interesse war auch die Frage, ob Proopsonin in den Fällen mit granulozytären Phagozytose-Bakterizidie-Defekten eine Steigerung der Abtötungsrate der Granulozyten bewirken konnte.

Sowohl bei den Ansätzen mit Poolserum, als auch bei denen mit Patientenserum, 1h und 2h Inkubationszeit, überwogen die Fälle, in denen die Bakterizidieraten der Patientengranulozyten mit Funktionsdefekten durch Proopsoninzugabe gesteigert werden konnten.

Bei der Auswertung mittels des Chi-Quadrat-Tests konnte jedoch keine signifikante Abhängigkeit zwischen dem Vorliegen granulozytärer Abtötungsdefekte und der Steigerung bzw. dem Abfall der Bakterizidieraten unter Proopsoninzugabe festgestellt werden (siehe Abb. 33).

4.2 In vivo Untersuchungen zur Frage des Proopsonineinflusses auf die Serumopsoninaktivität (siehe auch unter Abschnitt C, Punkt 3.2, Seite 101 - 119)

Zehn Patienten wurden mit der Testsubstanz Proopsonin parenteral behandelt. Vor Proopsoninzufuhr und 4 Tage nach der Infusionsbehandlung wurde Serum gewonnen zur Untersuchung der Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken.

Nach 1h Inkubation war in 3 der 10 Fälle, nach 2h Inkubation in 6 der 10 Fälle eine signifikante Steigerung der Serumopsoninaktivität nachweisbar (siehe auch Zusammenfassung der Ergebnisse in Tabelle 38).

Im Vergleich zweier Häufigkeiten ergeben sich bei der oben angegebenen Fallzahlverteilung (3 : 7 und 6 : 4) auf dem 5 % - Niveau und einseitiger Fragestellung keine signifikanten Unterschiede:

1h Inkubation:

$$x_1 = 7, x_2 = 3; \quad v_1 = 2(x_2 + 1), \quad v_2 = 2 \times x_1;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05}$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} = \frac{7}{4} = 1.75 < 2.7 = F_{8, 14; 0.05} \text{ einseitig}$$

2h Inkubation:

$$x_1 = 6, x_2 = 4; \quad v_1 = 2(x_2 + 1), \quad v_2 = 2 \times x_1;$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} \geq F_{v_1, v_2; \alpha = 0.05}$$

$$\hat{F} = \frac{x_1}{x_2 + 1} = \frac{6}{5} = 1.2 < 2.75 = F_{10, 12; 0.05} \text{ einseitig}$$

Somit konnte weder nach 1h Inkubation, noch nach 2h Inkubation in einer signifikanten Anzahl der untersuchten Patienten nach parenteraler Proopsonintherapie eine Steigerung (oder auch Abfall) der Serumopsoninaktivität festgestellt werden.

Die Patienten, bei denen nach Proopsoninmedikation eine signifikante Steigerung der Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken nachweisbar war, litten ebenso an Infektionen mit bakteriellen Erregern, wie die Patienten mit nicht signifikanter Zunahme bzw. Abnahme der Opsoninaktivität nach Proopsoninzufuhr. Eine Häufung des positiven Proopsonineffek-

tes bei Patienten mit bestimmten Grunderkrankungen bzw. bei Infektionen durch einen bestimmten Erregertyp war nicht erkennbar.

Auch bei der Bewertung der in vivo Ergebnisse muß berücksichtigt werden, daß zur Opsonisierung der Teststaphylokokken hauptsächlich thermolabile Serumproteine, insbesondere Komplementfaktoren, notwendig sind (siehe hierzu auf den Seiten 79ff, 121ff und 148ff) und die Ergebnisse somit primär eine Aussage über die Aktivität der in den Seren enthaltenen Komplementfaktoren zulassen.

4.3 Zusammenfassende Beurteilung von Proopsonin

1. Eine Komplementbestimmung ergab niedrige Werte von C1 und C4; C2, C3-Aktivator, C4 und C1-Inaktivator waren nicht nachweisbar. Die Bestimmung des CH₅₀ Wertes fiel negativ aus, d.h., die hämolytische Wirkung des Komplementsystems ist in Proopsonin nicht vorhanden, das Komplementsystem ist somit funktionell nicht vollständig vertreten. In dieser Unvollständigkeit des Komplementsystems dürfte auch die Ursache der fehlenden opsonisierenden Wirkung des Proopsonins gegen die Teststaphylokokken zu suchen sein (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.1.2, 3.1.4, 3.1.5 und Abschnitt D, Punkt 4.1.1, 4.1.3, 4.1.5, Seite 79ff und 147ff). Die Antikörpertiterbestimmung gegen bakterielle Antigene ergab hohe Werte gegen gramnegative Mikroorganismen; Opsono-Phagozytose-Versuche mit Proopsonin gegen diese Bakterienspezies könnten eher ein positives Untersuchungsergebnis ergeben.
2. Proopsonin allein scheint gegenüber den Teststaphylokokken bakterio-statische Aktivitäten zu besitzen (siehe unter Abschnitt C, Punkt 3.1.3.2, Seite 83 und Abschnitt D, Punkt 4.1.4, Seite 149).
3. Zugabe von Proopsonin zu gepooltem Serum und zu Patientenserum vermindert das Wachstum von inokulierten Staphylokokkus aureus (siehe unter Abschnitt C, Punkt 3.1.3, Seite 83ff und Abschnitt D, Punkt 4.1.4, Seite 149).

4. Proopsonin allein besitzt keine Opsonisierungsaktivität gegen die Teststaphylokokken (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.1.5, Seite 97 und Abschnitt D, Punkt 4.1.5, Seite 149).
5. Bei den Untersuchungen mit Defekt-Serum (absorbiertes, absorbiertes + dekomplementiertes, dekomplementiertes und filtriertes Serum) konnte Proopsonin die Depression der Opsonisierungsaktivität nicht korrigieren (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.1.2, Seite 79ff und Abschnitt D, Punkt 2 und Punkt 4.1.3, Seite 121 und 148).
6. Bei den in vitro Untersuchungen konnte eine Steigerung der Serumopsoninaktivität lediglich in den Ansätzen mit Patientengranulozyten unter Verwendung von homologem Serum (Poolserum) in signifikanter Fallzahl erreicht werden (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.1.4, Seite 89ff und Abschnitt D, Punkt 4.1.5, Seiten 149 und 150).
7. Die phagozytosesteigernde Wirkung von Proopsonin auf die Patientengranulozyten macht sich häufiger bei Patienten mit granulozytären Funktionsstörungen bemerkbar, als bei Patienten mit normaler granulozytärer Abtötungsrate, es besteht jedoch keine Signifikanz der Ergebnisse (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.1.6, Seiten 99 und 100, sowie Abschnitt D, Punkt 4.1.6, Seite 150).
8. Bei den in vivo Untersuchungen konnte in 3 von 10 Fällen (1h Inkubation) bzw. in 6 von 10 Fällen (2h Inkubation) eine signifikante Steigerung der Serumopsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken erreicht werden (siehe hierzu unter Abschnitt C, Punkt 3.2, Seite 101ff und Abschnitt D, Punkt 4.2, Seite 151).

F. ZUSAMMENFASSUNG

Die körpereigene Infektionsabwehr ist bei gesunden Individuen in der Regel in der Lage, eine Erregerinvasion zum Beispiel durch bakterielle Keime zu beherrschen, sofern keine pathologischen Gewebeveränderungen eine Keimbeseidlung im Organismus begünstigen oder das Abwehrsystem durch spezifische Störungen in seiner Funktion geschwächt ist. Eine optimale Infektionsabwehr ist bei den meisten Erregern nur möglich auf der Grundlage eines ungestörten Zusammenwirkens der spezifischen Abwehrfaktoren (T- und B-Lymphozyten, spezifische Immunglobuline) mit den unspezifischen Abwehrfaktoren (Phagozyten, Komplementsystem).

In unseren Untersuchungen mittels des Phagozytose-Bakterizidie-Tests wurden die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten und die Seren von Patienten mit primären und sekundären Immundefizienzen, sowie von Patienten mit rezidivierenden Infektionen auf ihre zelluläre Bakterizidiekapazität bzw. Serumopsoninaktivität gegenüber *Staphylokokkus aureus* untersucht. Ferner wurde ein opsoninhaltiges Präparat aus gepooltem menschlichem Serum, Proopsonin, auf seine Opsoninaktivität gegenüber den Teststaphylokokken getestet.

Wir konnten aufzeigen, daß zur Opsonisierung der Teststaphylokokken hauptsächlich thermolabile Serumopsoninfaktoren benötigt werden, von denen vor allem den Komplementfaktoren C3b, C4b und C5 eine opsonisierende Aktivität zugeschrieben wird; die spezifischen Immunglobuline spielten nur eine untergeordnete Rolle in der Opsonisierung der Teststaphylokokken. Die Opsoninaktivität in den Seren gegenüber den Teststaphylokokken ist daher in erster Linie ein Maß für die Aktivierbarkeit, sowie für die substantielle und funktionelle Integrität des Komplementsystems.

Proopsonin, bezüglich seines Opsoningehaltes im wesentlichen ein Immunglobulin-C3-Präparat, besitzt keine opsonisierende Aktivität gegen die Teststaphylokokken; dieser Befund dürfte seine Erklärung in der substantiellen und auch funktionellen Inkomplettheit des Komplementsystems im Proopsonin haben; die hämolytische Komplementaktivität (CH50) ging verloren. Dagegen scheint Proopsonin gegen die Teststaphylokokken eine bakteriostatische Wirkung zu besitzen.

Bei den in vivo Untersuchungen mit Proopsonin waren in 3 von 10 bzw. in 6 von 10 Fällen die Serumopsoninaktivität gegen die Teststaphylokokken nach parenteraler Proopsonintherapie gesteigert; im statistischen Vergleich

zweier Häufigkeiten waren diese Fallzahlen nur zufällig verschieden.

Die schon in der Literatur beschriebenen granulozytären Abtötungsdefekte bei Patienten mit septischer Granulomatose, Kostmann-Syndrom, Morbus Down, akuter lymphoblastischer Leukämie, akuter myeloblastischer Leukämie, ther-mischen Verletzungen, Diabetes mellitus und bakterieller Sepsis konnten in unseren Untersuchungen bestätigt werden.

Aber auch bei drei von vier Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom, einem Patienten mit Dysgammaglobulinämie, zwei Postsplenektomie-Patienten, ei-nem Patienten mit Urämie und Patienten mit verschiedenen Infektionen ohne definierte Immundefizienz waren erniedrigte granulozytäre Abtötungsraten gegenüber Staphylokokkus aureus nachweisbar. Bei Urämie-Patienten und Post-splenektomie-Patienten sind Störungen der Phagozytose beschrieben worden, dies könnte die erniedrigten Abtötungsraten in unseren Untersuchungen er-klären.

Eine Minderung der Serumopsoninaktivität fanden wir bei einem Patienten mit Dysgammaglobulinämie, einem Patienten mit Kostmann-Syndrom, einem splenektomierten Patienten, einem Patienten mit rezdivierenden Staphylo-kokken-Hautabszessen, einer Patientin mit Morbus Down, einer Patientin mit Verbrennungen und einem Frühgeborenen. Eine offensichtlich hereditäre Serumopsoninaktivitätsminderung gegenüber den Teststaphylokokken fanden wir bei einem Patienten mit septischer Granulomatose und einem Patienten mit akuter myeloischer Leukämie.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alexander, J.W.: Serum and leukocyte lysosomal enzymes following severe thermal injury, *Arch. Surg.*, 95:482, 1967
2. Alexander, J.W.: Host defense mechanisms against infection, *Surg. Clin. of North Amer.*, 52:1367, 1972
3. Alexander, J.W.: Lack of endocrine control of cyclic antibacterial function of neutrophils, *Fed. Proc.*, 31:657, 1972
4. Alexander, J.W., Dionigi, R., and Meakins, J.L.: Periodic variation in the antibacterial function of human neutrophils and its relationship to sepsis, *Ann. Surg.*, 173:206, 1971
5. Alexander, J.W., Fisher, M.W., and Mac Millan, B.G.: Immunological control of Pseudomonas infections in burn patients: A clinical evaluation, *Arch. Surg.*, 102:31, 1971
6. Alexander, J.W., and Meakins, J.L.: Natural defense mechanisms in clinical sepsis, *J. Surg. Res.*, 11:148, 1971
7. Alexander, J.W., Hegg, M., and Altemeier, W.A.: Neutrophil function in selected surgical disorders, *Ann. Surg.*, 168:447, 1968
8. Alexander, J.W., Windhorst, D.B., and Good, R.A.: Improved tests for the evaluation of neutrophil function in human disease, *J. Lab. & Clin. Med.*, 72:136, 1968
9. Alper, C.A., Abramson, N., Johnston, R.B., Jandl, J.H., Rosen, F.S.: Increased susceptibility to infection associated with abnormalities of complement mediated function of the third component of complement (C3), *N. Engl. J. Med.*, 282:349, 1970
10. Alper, C.A., Colten, H.R., and Rosen, F.S.: Homozygous deficiency of C3 in a patient with repeated infections, *Lancet* 1, 1179, 1972
11. Baehner, R.L.: Disorders of leukocytes leading to recurrent infection, *Pediat. Clin. of North Amer.*, 19:935, 1972
12. Baehner, R.L., Nathan, D.G., and Karnovsky, M.L.: Correction of the metabolic deficiencies in the leukocytes of patients with chronic granulomatous disease, *J. Clin. Invest.*, 49:860, 1970
13. Baehner, R.L., and Nathan, D.G.: Quantitative nitroblue tetrazolium test in chronic granulomatous disease, *N. Engl. J. Med.*, 278:971, 1968
14. Baehner, R.L., and Nathan, D.G.: Leukocyte oxidase. Defective activity in chronic granulomatous disease, *Science*, 155:835, 1967
15. Baehner, R.L., Neiburger, R.G., Johnson, D.E., Murrmann, S.M.: Transient bactericidal defect of peripheral blood phagocytes from children with acute lymphoblastic leukemia receiving craniospinal irradiation, *N. Engl. J. Med.*, 289:1209, 1973

16. Bagdale, J.D., Nielson, K., Root, R., Bulger, R.: Host defense in diabetes mellitus: The feckless phagocyte during poor control and keto-acidosis, *Diabetes*, 19:364, 1970 (Abstr.)
17. Ballow, M., Dupont, B., Good, R.A.: Autoimmune hemolytic anemia in Wiskott-Aldrich syndrome during treatment with transfer factor, *J. Pediatr.*, 83:772, 1973
18. Baum, J.: Chemotaxis in human disease, in: *The Phagocytic Cell in Host Resistance*, Eds. Bellanti, J.A., and Dayton, D.H., Raven Press, New York, 283, 1975
19. Beck, W.S.: Leukocyte metabolism, *Series Haemat.*, 1:69, 1968
20. Belding, M.E., Klebanoff, S.J., and Ray, C.G.: Peroxidase-mediated virucidal systems, *Science*, 167:195, 1970
21. Berglund, G., Finnström, O., Johansson, S.G.O., Möller, K.L.: Wiskott-Aldrich syndrome. A study of 6 cases with determination of the immunoglobulins A, D, G, M and ND, *Acta paed. scand.*, 57:89, 1968
22. Björnson, A.B., and Michael, J.G.: Factors in human serum promoting phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa*. I. Interaction of opsonins with the bacterium. II. Interaction of opsonins with the phagocytic cell, *J. Infect. Dis.*, 130:119, 1974 (Suppl.)
23. Bleese, R.M., Brown, R.S., Strober, W., and Waldmann, T.A.: The Wiskott-Aldrich syndrome. A disorder with a possible defect in antigen processing or recognition, *Lancet* 1, 1056, 1968
24. Bleese, R.M., Strober, W., and Waldmann, T.A.: Immunodeficiency in the Wiskott-Aldrich syndrome, in: *Immunologic deficiency diseases in man*, Eds. Bergsma, D., and Good, R.A., Birth Defects, Original Article Series, Vol. XI:250, 1975
25. Bodey, G.P.: Fungal infection complicating acute leukemia, *J. Chron. Disease*, 19:667, 1966
26. Boggs, D.R.: The cellular composition of inflammatory exudates in human leukemics, *Blood*, 15:466, 1960
27. Bohme, D.H.: The reticuloendothelial system and nonspecific resistance, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 88:172, 1960
28. Brogan, T.D.: Phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes from patients with renal failure, *Brit. Med. J.*, 3:596, 1967
29. Bybee, J.D., and Rogers, D.F.: The phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes obtained from patients with diabetes mellitus, *J. Lab. Clin. Med.*, 64:1, 1964
30. Chandra, R.W., Cope, W.A., and Soothill, J.F.: Chronic granulomatous disease. Evidence for an autosomal mode of inheritance, *Lancet* 2, 71, 1969

31. Chaptal, J., Royer, P., Jean, R., Alagille, D., Bonnet, H., Lagarde, E., Robinet, M., and Rieu, D.: Syndrome de Wiskott-Aldrich avec survie prolongée (9 ans), *Arch. franc. péd.*, 23:907, 1966
32. Clark, R.A., and Kimball, H.R.: Defective granulocyte chemotaxis in the Chediak-Higashi syndrome, *J. Clin. Invest.*, 50:2645, 1971
33. Cocchi, P., Mori, S., and Becattini, A.: NBT-test in premature infants, *Lancet* 2, 1426, 1969
34. Cohn, Z.A., and Morse, S.J.: Functional and metabolic properties of polymorphonuclear leukocytes. I. Observations on the requirements and consequences of particle ingestion. II. The influence of a lipopolysaccharide endotoxin, *J. Exp. Med.*, 111:667, 1960
35. Colten, H.R., and Rosen, F.S.: The serum complement system, in: *Immunologic Disorders in Infants and Children*, Eds. Stiehm, E.R., and Fulginitti, V.A., W.Faunders, Philadelphia, London, Toronto, p. 99, 1973
36. Constantopoulos, A., Najjar, V.A., Wish, J.B., Necheles, T.H., and Stolbach, L.L.: Defective phagocytosis due to Tuftsin deficiency in splenectomized subjects, *Am. J. Dis. Child.*, 125:663, 1973
37. Constantopoulos, A., Najjar, V.A., and Smith, J.W.: Tuftsin deficiency: A new syndrome with defective phagocytosis, *J. Pediatr.*, 80:564, 1972
38. Cooper, N.R.: Immune adherence by the fourth component of complement, *Science*, 165:396, 1969
39. Cooper, M.D., Chase, P., Lowman, J.T., Krivit, W., and Good, R.A.: Wiskott-Aldrich syndrome. An immunologic deficiency disease involving the afferent limb of immunity, *Am. J. Med.*, 44:499, 1968
40. McCracken, G.H., and Eichenwald, H.F.: Leucocyte function and the development of opsonic and complement activity in the neonate, *Amer. J. Dis. Child.*, 121:120, 1971
41. Dale, D.C., and Wolff, S.M.: Skin window studies of the acute inflammatory responses of neutropenic patients, *Blood*, 38:138, 1971
42. Dalloz, J.C., Castaing, N., Nezelof, C., and Seligmann, M.: Paraprotéïnémie transitoire de type gamma. Observation chez un nourrisson atteint du syndrome d' Aldrich, *Presse méd.*, 73:1541, 1975
43. Davis, W.C., Huber, H., Douglas, S.D., and Fudenberg, H.H.: A defect in circulating mononuclear phagocytes in chronic granulomatous disease of childhood, *J. Immun.*, 101:1093, 1968
44. Deutsch, E.: Hämorrhagische Diathesen, in: *Lehrbuch der Inneren Medizin*, herausgegeben von: Gross, R., Schölmerich, P., Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 185, 1972
45. Diaz-Buxo, J.A., Hermans, P.E., and Ritts, R.E.: Wiskott-Aldrich syndrome in an adult, *Mayo Clin. Proc.*, 49:455, 1974

46. Dosset, J.H., Williams, R.C., Jr., and Quie, P.G.: Studies on interaction of bacteria, serum factors and polymorphonuclear leucocytes in mothers and newborns, *Pediatrics*, 44:49, 1969
47. Douglas, S.D.: Analytic review: Disorders of phagocyte function, *Blood*, 35:851, 1970
48. Doyle, C.T., Tempany, E., and O'Donohoe, N.V.: Wiskott-Aldrich syndrome, *J. Irish Med. Ass.*, 62:104, 1969
49. Drachman, R.H., Root, R.K., and Wood, W.B.: Studies on the effect of experimental nonketotic diabetes mellitus on antibacterial defence. I. Demonstration of a defect in phagocytosis, *J. Exp. Med.*, 124:227, 1966
50. Edelson, P.J., Stites, D.P., Gold, S., and Fudenberg, H.H.: Disorders of neutrophil function. Defects in the early stages of the phagocytic process, *Clin. Exp. Immunol.*, 13:21, 1973
51. Ellis, E.F., and Smith, R.T.: The role of the spleen in immunity, with special reference to the post-splenectomy problem in infants, *Pediatrics*, 37:111, 1966
52. Farhadian, H.: The use of the NBT test in rheumatic diseases of childhood, *Proc. Inst. Med. Chicago*, 28:471, 1971
53. Feigin, R.D., Shackelford, P.S., Choi, S.C., Flake, K.K., Franklin, F.A., and Eisenberg, C.S.: Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the differential diagnosis of febrile disorders, *J. Pediatr.*, 78:230, 1971
54. Fidalgo, B.V., Najjar, V.A.: The physiological role of the lymphoid system. III. Leucophilic gammaglobulin and the phagocytic activity of the polymorphonuclear leucocytes, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 57:957, 1967
55. Fidalgo, B.V., Najjar, V.A.: The physiological role of the lymphoid system. IV. The stimulatory effect of leucophilic gammaglobulin (leucokinin) on the phagocytic activity of human polymorphonuclear leucocytes, *Biochem.*, 6:3386, 1967
56. Fireman, P., Zuchowski, D.A., and Taylor, P.M.: Development of human complement system, *J. Immunol.*, 103:25, 1969
57. Fisher, R.: Allgemeine Immunologie und Immunpathologie, in: *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie*, herausgegeben von Eder, M., und Gedigk, P., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 4:175, 1974
58. Foreman, M.L., and Stiehm, E.R.: Impaired opsonic activity but normal phagocytosis in low-birth-weight infants, *N. Engl. J. Med.*, 281:926, 1969
59. Gallin, J.I.: Abnormal chemotaxis: Cellular and humoral components, in: *The Phagocytic Cell in Host Resistance*, Eds. Bellanti, J.A., and Dayton, D.H., Raven Press, New York, 227, 1975

60. Gedigk, P.: Entzündung. A. Allgemeine Entzündungslehre, in: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie, herausgegeben von Eder, M., und Gedigk, P., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 3:105, 1974
61. Goel, K.M., Vowels, M.R.: Leucocyte function in normal and pre-term infants, *Acta Paediat. Scand.*, 63:122, 1974
62. Goldman, J.M., Catovsky, D.: The function of the phagocytic leucocytes in leukemia, *Brit. J. Haemat.*, 23:223, 1972
63. Goldman, J.M., Th'ng, K.H.: Phagocytic function of leucocytes from patients with acute myeloid and chronic granulocytic leukaemia, *Brit. J. Haemat.*, 25:299, 1973
64. Good, R.A., Zak, S.J., Condie, R.M., et.al.: Clinical investigation of patients with agammaglobulinemia and hypogammaglobulinemia, *Pediatr. Clin. North Am.*, 7:397, 1960
65. Graham, G.S.: The neutrophilic granules of the circulating blood in health and in disease. A preliminary report, *N.Y. State J. Med.*, 70:46, 1970
66. Gregory, L., Williams, R., Thompson, E.: Leucocyte function in Down's syndrome and acute leukemia, *Lancet* II, 1359, 1972
67. Griscelli, C., Phan-Huu-Trung, Herzog, C., and Mozziconacci, P.: Le syndrome de Wiskott-Aldrich. Données récentes à propos de quatre observations, *Nouv. Rev. franc. Hematol.*, 13:554, 1973
68. Haferkamp, O., Bültmann, B., Kleeberg, U.R., Haas, R.J., Borowski, K., Wildfeuer, A., Schachenmayr, W., Heymer, B., Niethammer, D., und Kleihauer, E.: Serumabhängige Funktionsstörungen von Granulozyten, *Dtsch. med. Wschr.*, 99:182, 1974
69. Herbert, W.J., and Wilkinson, P.C.: A Dictionary of Immunology, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, 1977 (2nd Ed.)
70. Hersh, E.M., and Bodey, G.P.: Leucocytic mechanism in inflammation, *Ann. Rev. Med.*, 21:105, 1970
71. Hill, H.R., Quie, P.G., Pabst, H.F., Ochs, H.D., Clark, R.A., and Klebanoff, S.J.: Defect in neutrophil granulocyte chemotaxis in Job's syndrome of recurrent "cold" staphylococcal abscesses, *Lancet* II, 617-619, 1974
72. Hill, H.R., and Quie, P.G.: Raised serum-IgE levels and defective neutrophil chemotaxis in three children with eczema and recurrent bacterial infections, *Lancet* I, 183, 1974
73. Hill, H.R., Warwick, W.J., Dettloff, J., and Quie, P.G.: Neutrophil granulocyte function in patients with pulmonary infection, *J. Pediatr.*, 84:55, 1974
74. Hirsch, J.G.: Phagocytin: A bactericidal substance from polymorphonuclear leucocytes, *J. Exp. Med.*, 103:589, 1956

75. Hirsch, J.G., and Strauss, B.: Studies in heat-labile opsonin in rabbit serum, *J. Immunol.*, 92:145, 1964
76. Holmes, B., Page, A.R., and Good, R.A.: Studies of the metabolic activity of leukocytes from patients with a genetic abnormality of phagocyte function, *J. Clin. Invest.*, 46:1422, 1967
77. Huber, H., Douglas, S.D., and Fudenberg, H.H.: The IgG receptor: An immunological marker for the characterization of mononuclear cells, *Immunology*, 17:7, 1969
78. Humbert, J.R., Kurtz, M.L., and Hathaway, W.E.: Increased reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils of newborn infants, *Pediatrics*, 45:125, 1970
79. Iyer, G.V., Islam, M.F., and Quastel, J.H.: Biochemical aspects of phagocytosis, *Nature (Lond.)*, 192:535, 1961
80. Jacobs, J.C., and Miller, M.E.: Fatal familial Leiner's disease: A deficiency of the opsonic activity of serum complement, *Pediatrics*, 49:225, 1972
81. Jensen, M.S., and Bainton, D.F.: Temporal changes in pH within the phagocytic vacuole of the polymorphonuclear neutrophilic leucocyte, *J. Cell Biol.*, 56:379, 1973
82. Johnston, R.B., Jr., Baehner, R.L.: Chronic granulomatous disease: correlation between pathogenesis and clinical findings, *Pediatrics*, 48:730, 1971
83. Johnston, R.B., Jr., Neale, B.B., Jr., Misra, H.P., Lehmyer, J.E., Webb, L.S., Baehner, R.L., and Rajagopalan, K.V.: The role of superoxide anion generation in phagocytic bacterial activity. Studies with normal and chronic granulomatous disease leukocytes, *J. Clin. Invest.*, 55:1357, 1975
84. Johnston, R.B., Jr., Klemperer, M.R., Alper, C.A., and Rosen, R.S.: The enhancement of bacterial phagocytosis by serum. The role of complement components and two cofactors, *J. Exp. Med.*, 129:1275, 1969
85. Kaplan, E.L., Laxdal, T., and Quie, P.G.: Studies of polymorphonuclear leukocytes from patients with chronic granulomatous disease of childhood: Bactericidal capacity for streptococci, *Pediatrics*, 41:591, 1968
86. Karnovsky, M.L.: Metabolic basis of phagocytic activity, *Physiol. Rev.*, 42:143, 1962
87. Karnovsky, M.L.: The metabolism of leukocytes, *Seminars Hemat.*, 5:156, 1968
88. Keller, H.V., and Sorkin, E.: Chemotaxis of leukocytes, *Experientia*, 24:641, 1968
89. Khan, A.J., Evans, H.E., Glass, L., Yong Ho Shin, and Almonte, D.: Defective neutrophil chemotaxis in patients with Down syndrome, *J. Pediatr.*, 87:87, 1975

90. Kim, M., Rodey, G.E., Good, R.A., Chilgren, R.A., and Quie, P.G.: Defective candidacidal capacity of polymorphonuclear leucocytes in chronic granulomatous disease of childhood, *J. Pediatr.*, 75:300, 1969
91. Klebanoff, S.J., and White, L.R.: Iodinating defect in the leucocytes of a patient with chronic granulomatous disease of childhood, *New Eng. J. Med.*, 280:460, 1969
92. Klebanoff, S.J.: Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxid antibactericidal system, *J. Bact.*, 95:2131, 1968
93. Klebanoff, S.J.: Myeloperoxidase-mediated antimicrobial systems and their role in leucocyte function, in: *Biochemistry of the Phagocytic Process: Localization and the Role of Myeloperoxidase and the Mechanism of the Halogenation Reaction*, Ed. Schultz, J., North-Holland Publ. Co., Amsterdam, pp. 89-110, 1970
94. Klebanoff, S.J.: Intraleucocytic microbicidal defects, *Ann. Rev. Med.*, 22:39, 1971
95. Koch, F., Schultze, H.E., und Schwick, G.: Komplementfaktoren und Properdin beim gesunden Säugling im ersten Lebensjahr, *Klin. Wschr.*, 36:17, 1958
96. Kostmann, R.: Infantile genetic agranulocytosis (agranulocytosis infantilis hereditaria). A new recessive lethal disease in man, *Acta Paediatr.*, 105:45, 1956 (Suppl.)
97. Kreitmair, H.: Phagozytose und Chemotherapie. Untersuchungen zur Bakterienphagozytose von Mäuse-Peritonealmakrophagen bei Anwesenheit von Ampizillin, Carbenizillin, Chloramphenicol und Tetracyclin, Dissertation, LMU München, 1974
98. Kretschmer, R.R., Lopez-Osuna, M., De La Rosa, and Armendaris, S.: Leukocyte functions in Down's syndrome qualitative NBT reduction and bactericidal capacity, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 2:449, 1974
99. Krill, C.E., Jr., and Mauer, A.M.: Congenital agranulocytosis, *J. Pediatr.*, 68:361, 1966
100. Krivit, W., Good, R.A.: Aldrich's syndrome (Thrombocytopenia, eczema, and infection in infants). *Am. J. Dis. Child.*, 97:137, 1959
101. Landbeck, G.: Hämorrhagische Diathesen, in: *Kinderheilkunde*, herausgegeben von Harnack, G.-A., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 206, 1977
102. Landing, B.H., Shirkey, H.S.: A syndrome of recurrent infection and infiltration of viscera by pigmented lipid histiocytosis, *Pediatrics*, 20:431, 1957
103. Lanzkowsky, P., Levy, S.: The triad of thrombocytopenia, eczema and infection, *South Afr. med. J.*, 39:280, 1965

104. Lehrer, R.J.: Measurement of candidacidal activity of specific leukocyte types in mixed cell population: I. Normal, myeloperoxidase-deficient, and chronic granulomatous disease neutrophils, *Infect. Immun.*, 2:42, 1970
105. Lehrer, R.J., and Cline, M.J.: Interaction of candida albicans with human leukocytes and serum, *J. Bact.*, 98:996, 1969
106. Lehrer, R.J., and Cline, M.J.: Leukocyte candidacidal activity and resistance to systemic candidiasis in patients with cancer, *Cancer*, 27:1211, 1971
107. Lennert, K.: Blut und blutbildende Organe, in: *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie*, herausgegeben von Eder, M., und Gedigk, P., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 335, 1974
108. Lepow, I.H.: Permeability producing peptide by product of the interaction of the first, fourth and second components of complement, in: *Biochemistry of the Acute Allergic Reactions*, 2nd. Int. Symp., Eds. Austen, K.F., and Becker, E.L., Blackwell Sci. Pubs., London, pp. 205-215, 1971
109. Lepow, I.H., Willms-Kretschmer, K., and Patrick, R.A.: Gross and ultrastructural observations on lesions produced by intradermal injection of C3a in man, *Am. J. Pathol.*, 61:13, 1970
110. Levin, A.S., Spitler, L.E., Stites, D.P., and Fudenberg, H.H.: Wiskott-Aldrich syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 67:821, 1970
111. Lewis, G.P.: The role of peptides in the first stages of inflammation, in: *Injury, Inflammation, and Immunity*, Eds. Williams and Wilkins, Baltimore, 1964
112. Linke, Th., und Hahn, H.: Träger der Infektabwehr: der aktivierte Makrophage, in: *Die gelben Hefte*, 3:122, 1976 (Immunbiolog. Informationen von Behring)
113. MacFarelane, P.S., Speirs, A.L., and Sommerville, R.G.: Fatal granulomatous disease of childhood and benign lymphocytic infiltration of the skin (congenital dysphagocytosis), *Lancet* I, 408-410, 1967
114. Mandell, G.L., and Hook, E.W.: Leukocyte function in chronic granulomatous disease of childhood, *Amer. J. Med.*, 47:473, 1969
115. Mandell, G.L.: Intraphagosomal pH of human polymorphonuclear neutrophils, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 134:447, 1970
116. Mandl, M.A.J., Watson, J.I., and Rose, B.: The Wiskott-Aldrich syndrome. Immunopathologic mechanisms and a long-term survival, *Ann. int. med.*, 68:1050, 1968
117. Marget, W., und Betke, K.: Immunologie und Immunpathologie, in: *Elementare Pädiatrie*, herausgegeben von Betke, K., Lampert, F., und Riegel, K., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 83, 1974

118. Marney, S.R., Jr., Daniel, G.G., and Des Prez, R.M.: Alternate complement pathway induction of aggregation and release of 5-hydroxytryptamine and adenosine diphosphate by rabbit platelets, *J. Immunol.*, 114:696, 1975
119. Masson, P.L., Heremans, J.F., and Schonke, E.: Lactoferrin - an iron binding protein in neutrophil leucocytes, *J. Exp. Med.*, 130:643, 1969
120. Matula, G., and Paterson, P.V.: Spontaneous in vitro nitro blue tetrazolium reduction: A discriminatory test for bacterial infection in adults, *J. Clin. Invest.*, 49:62a, 1970
121. Messner, R.P., Reed, W.P., Palmer, D.L., Bolin, R.B., Davis, A.T., and Quie, P.G.: A transient defect in Leukocytic bactericidal capacity, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1:523, 1973
122. Michael, J.G., and Rosen, F.S.: Association of "natural" antibodies to gram-negative bacteria with the gamma-1 macro-globulins, *J. Exp. Med.*, 118:619, 1963
123. Miller, M.E., Oski, F.A., and Harris, M.B.: Lazy-leucocyte syndrome. A new disorder of neutrophil function, *Lancet* II, 665-669, 1971
124. Miller, D.R., Freed, B.A., and Lapey, J.D.: Congenital neutropenia. Report of a fatal case in a negro infant with leukocyte function studies, *Amer. J. Dis. Child.*, 115:337, 1968
125. Miller, M.E.: Phagocytosis in the newborn infant: Humoral and cellular factors, *J. Pediatr.*, 74:255, 1969
126. Miller, M.E., and Nilsson, U.R.: A familial deficiency of the phagocytosis-enhancing activity of serum related to a dysfunction of the fifth component of complement (C5), *N. Engl. J. Med.*, 282:354, 1970
127. Miller, M.E.: Chemotactic function in the human neonate: humoral and cellular aspects, *Pediat. Res.*, 5:487, 1971
128. Miller, M.E., and Baker, L.: Leukocyte functions in juvenile diabetes mellitus: Humoral and cellular aspects, *J. Pediatr.*, 81:979, 1972
129. Miller, M.E., Norman, M.E., Koblenzer, P.J., and Schonauer, T.: A new familial defect of neutrophil movement, *J. Lab. and Clin. Med.*, 82:1, 1973
130. Miller, M.E.: Developmental maturation of human neutrophil motility and its relationship to membrane deformability, in: *The Phagocytic Cell in Host Resistance*, Eds. Bellanti, J.A., and Dayton, D.H., Raven Press, New York, p. 295, 1975
131. Miller, T.E.: Killing and lysis of gram-negative bacteria through the synergistic effect of hydrogen peroxide, ascorbic acid and lysozyme, *J. Bacteriol.*, 98:949, 1969
132. Montgomery, J.Z., Kalmanson, G.M., and Guze, L.B.: Leukocyte phagocytosis and serum bactericidal activity in chronic renal failure, *The Amer. J. Med. Sci.*, 246:385, 1972

133. Mowat, A.G., and Baum, J.: Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from patients with diabetes mellitus, *New Engl. J. Med.*, 284:621, 1971
134. Müller-Eberhard, H.J.: Complement and phagocytosis, in: *The Phagocytic Cell in Host Resistance*, Eds. Bellanti, J.A., and Dayton, D.H., Raven Press, New York, p. 87, 1975
135. Müller-Eberhard, H.J.: The complement system, in: *The Plasma Proteins I*, Eds. Putnam, F.W., Academic Press, New York, N.Y., p. 393, 1975
136. Muschel, L.H.: Immune bactericidal and bacteriolytic reactions, in: *Ciba Foundation Symposium on Complement*, Eds. Wolstenholme, G.E.W., and Knight, J., Little Brown & Co., Inc., Boston, pp. 155-169, 1965
137. Najjar, V.A.: The physiological role of the lymphoid system, *Lymphology*, 3:23, 1970
138. Najjar, V.A., and Nishioka, K.: A natural phagocytosis stimulating peptide, *Nature*, 228:672, 1970
139. Najjar, V.A., and Constantopoulos, A.: A new phagocytosis stimulating tetrapeptide hormon, and its role in disease, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 12:197, 1972
140. Nathan, D.G., Baehner, R.L., and Weaver, D.K.: Failure of nitroblue tetrazolium reduction in the phagocytic vacuoles of leukocytes in chronic granulomatous disease, *J. Clin. Invest.*, 48:1895, 1969
141. Nishioka, K., and Linscott, W.D.: Components of guinea pig complement. Separation of a serum fraction essential for immune haemolysis and immune adherence, *J. Exp. Med.*, 118:767, 1963
142. Niethammer, D., Wildfeuer, A., Kleihauer, E., und Haferkamp, C.: Granulozytendysfunktion. I. Angeborene Störungen. II. Erworbene Störungen, *Klin. Wschr.*, 53:643-652 und 739-746, 1975
143. Niethammer, D., Heinze, E., Teller, W., Kleihauer, E., Wildfeuer, A., and Haferkamp, D.: Impairment of granulocyte function in juvenile diabetes, *Klin. Wschr.*, 53:1057, 1975
144. Oram, J.D., and Reiter, B.: Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron-chelating agents, *Biochim. Biophys. Acta*, 170:351, 1968
145. Page, A.R., and Good, R.A.: Studies on cyclic neutropenia, *Amer. J. Dis. Child.*, 94:623, 1957
146. Papamichail, M., Gutierrez, G., Embling, P. et al.: Complement dependence of localisation of aggregated IgG in germinal centres, *Scand. J. Immunol.*, 4:343, 1975
147. Park, B.H.: The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid, *J. Pediatr.*, 78:376, 1971
148. Park, B.H., Holmes, B.M., Rodey, G.E., and Good, R.A.: Nitroblue tetrazolium test in children with fatal granulomatous disease and newborn infants, *Lancet I*, 157, 1969

149. Park, B.H., Fikring, S.M., and Smithwick, E.M.: Infection and nitroblue tetrazolium by neutrophils, *Lancet* II, 532, 1968
150. Paul, B., and Sbarra, A.J.: The role of the phagocyte in host-parasite interactions. XIII. The direct quantitative estimation of hydrogen peroxide in phagocytizing cells, *Biochim. Biophys. Acta*, 156:168, 1968
151. Paul, B.B., Strauss, R., and Sbarra, J.: The role of the phagocyte in host-parasite interactioning. XVI. Effect on irradiation on H₂O₂-production in guinea pig exudate cells, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 5:538, 1968
152. Paul, B.B., Strauss, R.R., Jacobs, A.A., and Sbarra, A.J.: Function of H₂O₂ myeloperoxidase and hexose monophosphate shunt enzymes in phagocytizing cells from different species, *Infect. Immun.*, 1:338, 1970
153. Perillie, P.E., Nolan, J.P., and Finch, S.C.: Studies of the resistance to infection in diabetes mellitus: Local exudative cellular response, *J. Lab. Clin. Med.*, 59:1008, 1962
154. Perillie, P.E., and Finch, S.C.: Quantitative studies of the local exudation cellular reaction in acute leukemia, *J. Clin. Invest.*, 43:425, 1964
155. Pillemer, L.L., Blum, L., and Lepow, I.H.: The properdin system and immunity. I. Demonstration and isolation of a new serum protein, properdin, and its role in immune phenomena, *Science*, 120:279, 1954
156. Propp, R.P., and Alper, C.A.: C3 synthesis in the human fetus and lack of transplacental passage, *Science*, 162:672, 1968
157. Quadripur, S.-A.: Medikamentöse Beeinflussung der Phagozytosefähigkeit der Granulozyten, *Ther. d. Gegenw.*, 115:1072, 1976
158. Quie, P.G., White, J.G., Holmes, B., and Good, R.A.: In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes: Diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood, *J. Clin. Invest.*, 46:668, 1967
159. Rabinovitch, M.: Phagocytosis: The engulfment stage, *Sem. Hemat.*, 5:134, 1968
160. Radl, J., Dooren, L.J., Morell, A., Skvaril, F., Vossen, J.M.J.J., and Vittenbogaart, C.H.: Immunoglobulins and transient paraproteins in sera of patients with the Wiskott-Aldrich syndrome: a follow up study, *Clin. Exp. Immunol.*, 25:256, 1976
161. Radl, J., Masopust, J., Houstek, J., and Hrodek, O.: Paraproteinemia and unusual dysgammaglobulinemia in a case of Wiskott-Aldrich syndrome. An immunochemical study, *Arch. Dis. Childh.*, 42:608, 1967
162. Rebuck, J.W., and Crowley, J.H.: A method of studying leukocyte functions in vivo, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 59:757, 1955
163. Recheigl, M., Jr., and Evans, W.H.: Role of catalase and peroxidase in the metabolism of leucocytes, *Nature*, 199:1001, 1963

164. Mc Ripley, R.J., Selvaray, R.J., and Glovsky, M.M.: The role of the phagocyte in host-parasite interactions. VI. The phagocytic and bactericidal capabilities of leukocytes from patients undergoing x-irradiation, *Radiat. Res.*, 31:706, 1967
165. Rodey, G.E., Park, B.H., Windhorst, D.B., and Good, R.A.: Defective bactericidal activity of monocytes in fatal granulomatous disease, *Blood*, 33:813, 1969
166. Rohmann, H.: Über die Phagozytose des Leukozyten bei Diabetikern, *Folia haemat. Lpz.*, 85:267, 1966
167. Rosner, F., Kozinn, P.J., and Jervis, G.A.: Leukocyte function and serum immunoglobulins in Down's syndrome, *N.Y. State J. Med.*, 73:1, 1973
168. Ross, G.D., Polley, M.J., Rabellino, E.M., and Grey, H.M.: Two different complement receptors on human lymphocytes, *J. Exp. Med.*, 138:798, 1973
169. Rossi, F., and Zatti, M.: Changes in the metabolic pattern of polymorphonuclear leucocytes during phagocytosis, *Brit. J. Exp. Pathol.*, 45:548, 1964
170. Rother, K.: Leucocyte mobilising factor. A new biological activity derived from the third component of complement, *Eur. J. Immunol.*, 2:530, 1972
171. Rous, P.: The relative reaction within living mammalian tissues. II. On the mobilization of acid material within cells, and the reaction as influenced by the cell state, *J. Exp. Med.*, 41:399, 1925
172. Sbarra, A.J., and Karnovsky, M.L.: The biochemical basis of phagocytosis. I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes, *J. Biol. Chem.*, 234:1355, 1959
173. Schulkind, M.L., Ellis, E.F., and Smith, R.T.: Effect of antibody upon clearance of 125 I-labelled pneumococci by the spleen and liver, *Pediat. Res.*, 1:178, 1967
174. Simberkoff, M.S., Ricupero, I., and Rahal, J.J., Jr.: Host resistance to *Serratia marcescens* infection: serum bactericidal activity and phagocytosis by normal blood leukocytes, *J. Lab. & Clin. Med.*, 87:206, 1976
175. Skarnes, R.C., and Watson, D.W.: Characterization of leukini: an antibacterial factor from leukocytes active against Gram-positive pathogens, *J. Exp. Med.*, 104:829, 1956
176. Snyderman, R., and Stahl, Ch.: Defective immune effector function in patients with neoplastic and immune deficiency diseases; in: *The Phagocytic Cell in Host Resistance*, Eds. Bellanti, J.A., and Dayton, D.H., Raven Press, New York, 267, 1975
177. Soothill, J.F., and Harvey, B.A.M.: Defective opsonization. A common immunity deficiency, *Arch. Dis. Childh.*, 51:91, 1976

178. Soriano, R.B., South, M.A., Goldman, A.S., and Smith, C.W.: Defect of neutrophil motility in a child with recurrent bacterial infections and disseminated cytomegalovirus infection, *J. Pediatr.*, 83:951, 1973
179. Spitler, L.E., Levin, A.S., Stites, D.P., Fudenberg, H.H., Pirofsky, B., August, C.S., Stiem, E.R., Hitzig, W.H. and Gatti, R.A.: The Wiskott-Aldrich syndrome. Results of transfer factor therapy, *J. Clin. Invest.*, 51: 3216, 1972
180. Sprick, M.G.: Phagocytosis of *M. tuberculosis* and *M. smegmatis* stained with indicator dyes, *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.*, 74:552, 1956
181. Stossel, T.P.: The department of defense, *New Eng. J. Med.*, 286:776, 1972
182. Suter, E.: Interaction between phagocytes and pathogenetic microorganisms, *Bacteriol. Rev.*, 20:94, 1956
183. Thompson, E.N., Chandra, R.K., Cope, W.A., and Soothill, J.F.: Leucocyte abnormality in both parents of a patient with chronic granulomatous disease, *Lancet* I, 799, 1969
184. Tischler, H.: Das Wiskott-Aldrich-Syndrom. Multifaktorielle Analyse von 171 Fällen, einschließlich zwölf Beobachtungen an der Universitäts-Kinderklinik München (1937-1976), Dissertation, LMU München, 1978
185. Wang, R.I.H., and Schuler, G.: Agranulocytosis following procainamide administration, *Amer. Heart J.*, 78:282, 1969
186. Ward, P.A.: Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes, *Biochem. Pharm.*, Suppl.:99, 1969
187. Ward, P.A.: Chemotaxis of mononuclear cells, *J. Exp. Med.*, 128:1201, 1968
188. Ward, P.A.: Leukotactic factors in health und disease, *Am. J. Pathol.*, 64:521, 1971
189. Ward, P.A., Cochrane, C.G., and Müller-Eberhard, H.J.: The role of serum complement in chemotaxis of leucocytes in vitro, *J. Exp. Med.*, 122:327, 1965
190. Ward, P.A., and Hill, J.H.: C5-chemotactic fragments produced by an enzyme in liposomal granules of neutrophils, *J. Immunol.*, 104:535, 1970
191. Ward, P.A., and Hill, J.H.: Role of complement in the generation of leukocytic mediators in immunologic and nonspecific tissue injuries, in: *Immunopathology of Inflammation*, Eds. Forscher, B.K., and Houck, J.C., Excerpta Medica, Amsterdam, 1971
192. Ward, P.A., Offen, C.P., and Montgomery, J.R.: Chemottractants of leukocytes, with special reference to lymphocytes, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 30:1721, 1971
193. Ward, P.A., and Schlegel, R.J.: Impaired leukotactic responsiveness in a child with recurrent infections, *Lancet* II, 344, 1969

194. Warden, G.D., Mason, A.D., Jr., and Pruitt, B.A., Jr.: Evaluation of leukocyte chemotaxis in vitro in thermally injured patients, *J. Clin. Invest.*, 54:1001, 1974
195. Weiss, A.P., Gallin, J.I., and Kaplan, A.P.: Fletcher factor deficiency. A diminished rate of Hageman factor activation caused by absence of prekallikrein with abnormalities of coagulation, fibrinolysis, chemotactic activity, and kinin generation, *J. Clin. Invest.*, 53:622, 1974
196. Whicher, J.T.: The value of complement assays in clinical chemistry, *Clin. Chem.*, 24:7, 1978
197. White, R.G., Henderson, D.C., Eslami, M.B., and Nielsen, K.H.: Localisation of a protein antigen in the chicken spleen. Effect of various manipulative procedures on the morphogenesis of the germinal centre, *Immunology*, 28:1, 1975
198. Windhorst, D.B., Holmes, B., and Good, R.A.: A newly defined x-linked trait in man with demonstration of the lyon effect in carrier females, *Lancet* I, 737, 1967
199. Windhorst, D.P., Page, A.R., Holmes, B., Quie, P.G., Good, R.A.: The pattern of genetic transmission of the leukocyte defect in fatal granulomatous disease of childhood, *J. Clin. Invest.*, 47:1026, 1968
200. Winkelstein, J.A., and Drachman, R.H.: Deficiency of pneumococcal serum opsonizing activity in sickle-cell disease, *New Engl. J. Med.*, 279:459, 1968
201. Xanthou, M., Velassi-Adam, E., Kintzonidou, E., and Matsaniotis, N.: Phagocytosis and killing ability of *Candida albicans* by blood leukocytes of healthy term and preterm babies, *Arch. Dis. Childh.*, 50:72, 1975
202. Zatti, M., Rossi, F., and Patriarca, P.: The H₂O₂-production by polymorphonuclear leucocytes during phagocytosis, *Experientia*, 24:669, 1968

Für die Überlassung des Themas und die Durchsicht der Arbeit bedanke ich mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. W. Marget.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. B. H. Belohradsky für seine stets freundliche Hilfe und seine Anregungen sowohl bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen, als auch bei der Auswertung und Diskussion der Ergebnisse.

Dank schulde ich auch Frau Roos und Frau Ottosson für ihre freundliche Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Name	Mayr
Vorname	<u>Josef</u> , Xaver
Geboren	am 18. März 1947 in Höchstädt/Donau
Vater	Mayr, Josef geb. am 09.09. 1905 in Blindheim/Donau
Mutter	Mayr, Kreszenz geborene Scherer geb. am 15. 06. 1906 in Augsburg/Oberhausen
Schulbildung und frühere Berufstätigkeit	Volksschule in Blindheim/Donau 1953 - 1961 Landwirtschaftliche Kreisberufsschule in Dillingen 1961 - 1964 Lehrzeit, Gehilfenprüfung und Tätigkeit als Landwirt 1961 - 1968 Berufsaufbauschule in Donauwörth mit Fach- schulreifeabschluß 1966 - 1969 Bayernkolleg in Augsburg mit Hochschulreife- abschluß 1969 - 1972
Hochschule	Ludwig-Maximilians Universität München Medizinische Fakultät 1972 - 1978 Naturwissenschaftliche Vorprüfung 1973 Ärztliche Vorprüfung 1974 Ärztliche Prüfung, 1. Abschnitt 1975 Ärztliche Prüfung, 2. Abschnitt 1977 Ärztliche Prüfung, 3. Abschnitt 1978
Praktisches Jahr	1. Innere Medizin Oktober 1977 bis Januar 1978 Klinikum Großhadern, I. Medizinische Klinik Direktor Prof. Dr. G. Riecker

2. Chirurgie

Februar bis Mai 1978

Hauptkrankenhaus Augsburg, I. Chirurgische Klinik

Chefarzt Prof. Dr. H. Gumrich

3. Kinderheilkunde

Juni bis September 1978

Hauner'sche Universitäts-Kinderklinik München

Direktor Prof. Dr. K. Betke

Assistenzarztzeit

Medizinische Klinik Haunstetten

Chefarzt Dr. G. Frese

ab Januar 1979

